



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) MEDIANTE EL TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*) Y CONTENIDO DE FLAVONOIDES”

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR:

RUTH ELIZABETH CARGUA QUISHPI

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Rosa Mercedes y Abuelita Mercedes por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanos Iván y Nataly que me han dado palabras de ánimo y gran estímulo motivándome en el largo camino de la carrera.

A todos mis familiares que directamente me impulsaron para llegar hasta este lugar, que me resulta muy difícil poder nombrarlos, sin embargo ustedes saben quiénes son.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ser los forjadores de mi enseñanza.

A la Dra. Cumandá Játiva por su asesoramiento en la dirección de la presente Tesis, quien con su experiencia como docente e investigadora ha sido la guía idónea, me ha brindado el tiempo necesario, como la información para que este anhelo llegue a ser felizmente culminada.

Al Dr. Francisco Portero, quien me presto toda la colaboración desinteresada en el transcurso del trabajo de tesis.

A los Drs. Miembros del Tribunal de Tesis por el gran aporte brindado en la elaboración del trabajo.

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que el trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) MEDIANTE EL TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*) Y CONTENIDO DE FLAVONOIDES”, de responsabilidad de la señorita egresada Ruth Elizabeth Carga Quishpi, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez DECANO FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Iván Ramos DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
Dra. Cumandá Játiva DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
Dr. Francisco Portero MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
NOTA DE TESIS	-----	

Yo, Ruth Elizabeth Cargua Quishpi, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

RUTH ELIZABETH CARGUA QUISHPI

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidónico
A.C	Antes de cristo
AINES	Antiinflamatorios No Esteriodales
ANOVA	Análisis de varianza
ATCC	American Type Culture Collection (Colección Americana de tipos de cultivo)
cm ³	Centímetro cúbicos volumen
COX	Enzima Ciclooxygenasa
°C	Grados Celsius
DL50	Dosis letal media
E	Estómago
g	Gramo
Grupo A	114,47mg/kg dosis equivalente de la planta contenida en el extracto Carrasquilla
Grupo B	68.68 mg/kg dosis equivalente de la planta contenida en el extracto Carrasquilla
Grupo C	45,78 mg/kg dosis equivalente de la planta contenida en el extracto Carrasquilla
h	Horas
H	Hígado
HCCl ₃	Cloroformo
IL-1	Interleuquina
kg	Kilogramos
L	Litro
LT C	Leucotrienos
mg	Miligramos
mL	Mililitro
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetros
OMS	Organización mundial de la salud
PAF	Factor activador de plaquetas
PCR	Proteína C reactiva
PGI	Prostaciclina
PG	Prostaglandinas
R. n.	<i>Rattus norvegicus</i>
R1	Primera repetición
R2	Segunda repetición
R3	Tercera repetición
R	Riñones
TXA2	Tromboxanos
TNF	Factor de necrosis tumoral
UV	Ultravioleta visible
%	Porciento
-	Negativo

+	Positivo
%R	Porcentaje de rendimiento
λ	Longitud de onda

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO	1
1.1	Carrasquilla (<i>Berberis hallii</i>).....	1
1.1.1	Historia.....	2
1.1.2	Habitad.....	3
1.1.3	Descripción Botánica.....	3
1.1.4	Clasificación Botánica.....	5
1.1.5	Composición Química de Carrasquilla.....	5
1.1.5.1	Berberina.....	6
1.1.6	Aplicaciones del género <i>Berberis</i>	8
1.1.6.1	Aplicaciones medicinales.....	8
1.1.6.2	Aplicaciones culinarias.....	9
1.1.6.3	Aplicaciones en la industria textil.....	9
1.1.7	Estudios clínicos.....	10
1.1.7.1	Actividad antiinflamatoria.....	10
1.1.8	Actividad farmacología.....	10
1.1.9	Aprovechamiento integral de Carrasquilla.....	10
1.1.10	Precauciones.....	11
1.2	Extractos.....	11
1.2.1	Obtención de extractos a partir de plantas medicinales.....	11
1.2.2	Parámetros de extracción.....	12
1.3	Sustancias activas.....	13
1.3.1	Alcaloides en <i>Berberis hallii</i>	14
1.3.2	Flavonoides en <i>Berberis hallii</i>	16
1.4	Análisis Espectrofotométricos.....	18
1.4.1	Espectrofotometría UV-Visible.....	18
1.5	Inflamación.....	19
1.5.1	Inflamación Aguda.....	20

1.5.2	Inflamación Crónica.....	21
1.5.3	Mecanismos que intervienen en la inflamación.....	22
1.5.3.1	Migración leucocitaria.....	22
1.5.3.2	Células que intervienen en la inflamación.....	23
1.5.3.3	Moléculas que intervienen en la inflamación.....	24
1.5.3.4	Manifestaciones sistémicas de la inflamación.....	26
1.5.3.5	Reparación de la inflamación.....	27
1.6	Fármacos Antiinflamatorios.....	27
1.6.1	Naproxeno sódico.....	29
1.7	Carragenina.....	30
1.8	Ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	31
1.8.1	Clasificación taxonómica.....	31
1.8.2	Descripción de la especie.....	32
1.8.3	Medidas.....	33
1.8.4	Ciclo reproductivo.....	33
1.8.5	Tamaño de la camada.....	33
1.8.6	Hábitos alimenticios.....	33
1.9	Determinación de la toxicidad aguda en animales de experimentación.....	34
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	36
2.1	Lugar de investigación.....	36
2.2	Materiales, Equipos y Reactivos.....	36
2.2.1	Material Biológico.....	36
2.2.1.1	Descripción.....	36
2.2.1.2	Condiciones.....	37
2.2.2	Materia Prima.....	37
2.2.3	Equipos.....	37
2.2.4	Materiales de Laboratorio.....	38
2.2.5	Reactivos.....	39
2.3	Factores de Estudio.....	39
2.4	Técnicas y Métodos.....	40
2.4.1	Recolección de la materia prima.....	40
2.4.2	Comprobación taxonómica e identificación botánica.....	40
2.4.3	Procesamiento de materia prima: muestreo, limpieza y desinfección del material vegetal.....	40

2.4.4	Obtención del extracto.....	41
2.5	Métodos generales para el análisis del extracto.....	41
2.5.1	Determinación de los requisitos organolépticos.....	41
2.5.2	Determinación de la densidad relativa.....	42
2.5.3	Determinación del índice de refracción.....	43
2.5.4	Determinación del pH de extractos.....	44
2.6	Control de calidad de la droga cruda.....	45
2.6.1	Determinación del contenido de humedad.....	45
2.7	Extracción de alcaloides y flavonoides.....	46
2.8	Lectura en el Espectrofotómetro.....	49
2.8.1	Lectura en el Espectrofotómetro para los Alcaloides.....	49
2.8.2	Lectura en el espectrofotómetro para los Flavonoides.....	50
2.9	Actividad antiinflamatoria del extracto Etanólico de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	51
2.9.1	Prueba de edema plantar en ratas (<i>Rattus novergicus</i>) inducido por Carragenina.....	51
2.9.2	Esquema del diseño experimental.....	55
2.10	Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	56
2.10.1	Diseño experimental.....	56
2.10.2	Examen Anatómico-Patológico.....	58
2.10.3	Examen histopatológico.....	58
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
3.1	Control de calidad de la droga fresca de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	59
3.1.1	Comprobación Taxonómica e Identificación Botánica.....	59
3.1.2	Identificación macroscópico.....	59
3.2	Análisis del extracto etanólico de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	60
3.2.1	Determinación del porcentaje de rendimiento.....	60
3.2.2	Características del extracto etanólico de <i>Berberis halliii</i>	61
3.3	Control de calidad de la droga cruda y contenido de alcaloide y flavonoides en el extracto etanólico de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	62
3.5	Análisis espectrofotométrico de alcaloides y flavonoides.....	63
3.6	Actividad antiinflamatoria del extracto Etanólico de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>) en ratas (<i>Rattus novergicus</i>) con edema plantar inducido con carragenina.....	64
3.6.1	Análisis Estadístico.....	68

3.6.1.1	Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación.....	80
3.7	Evaluación de la toxicidad aguda del extracto Etanólico de los tallos de Carrasquilla (<i>Berberis haliii</i>).....	83
3.8	Examen histopatológico a ratas (<i>Rattus novergicus</i>).....	85
4.	Conclusiones.....	90
5.	Recomendaciones.....	91
6.	Resumen.....	92
	Sumary.....	93
7.	Bibliografía.....	94
8.	Anexos.....	104

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Lectura en el Espectrofotómetro para los Alcaloides a una longitud de Onda (Λ) 245 nm.....	50
CUADRO No. 2	Lectura en el Espectrofotómetro para los Flavonoides a una longitud de Onda (Λ) 205 nm.....	50
CUADRO No. 3	Grupos de Experimentación para la Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria del Extracto de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>), Empleando el Modelo del Edema Plantar Inducido con Carragenina.....	55
CUADRO No. 4	Determinación del porcentaje de rendimiento del extracto concentrado de los tallos de carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	60
CUADRO No. 5	Características del extracto etanólico de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	61
CUADRO No. 6	Control de calidad de la droga cruda y contenido de alcaloides y flavonoides en el extracto etanólico Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	62
CUADRO No. 7	Lecturas en el espectrofotómetro de los alcaloides de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	63
CUADRO No. 8	Lecturas en el espectrofotómetro de los flavonoides de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	64
CUADRO No. 9	Resultados del volumen del edema plantar de las ratas durante la investigación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>) y Naproxeno sódico.....	65
CUADRO No.10	Porcentaje de inflamación en los diferentes tratamientos durante la investigación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Carrasquilla.	69
CUADRO No. 11	Porcentaje de inhibición del edema plantar con diferentes tratamientos durante la investigación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Carrasquilla.	79
CUADRO No. 12	Análisis de varianza de un factor para los porcentajes de inflamación con respecto al tiempo.....	81
CUADRO No. 13	Comparación entre pares de medias método de Tukey para el porcentaje de inflamación.....	81
CUADRO No. 14	Análisis de varianza de un factor para los porcentajes de inhibición.....	82
CUADRO No. 15	Comparación entre pares de Medias método de Tukey para el porcentaje de Inhibición.....	82
CUADRO No. 16	Análisis de signos clínicos en los días 1 ,7 y 14.en ratas durante la investigación de la toxicidad aguda del extracto de Carrasquilla.	84
CUADRO No. 17	Medición del peso basal, intermedio y final de ratas en función del tiempo durante la investigación de la toxicidad aguda del extracto de carrasquilla (grupo experimental).	84

CUADRO No. 18	Examen histopatológico a ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) que se les administro extracto de carrasquilla (<i>Berberis hallii</i>) para la investigación del efecto toxico.	86
---------------	---	----

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Clasificación Botánica de la Carrasquilla, (<i>Berberis Hallii</i>).....	5
TABLA No. 2	Mediadores Químicos de la Inflamación.....	24
TABLA No. 3	Evaluación de signos de toxicidad.....	57
TABLA No. 4	Rango de masa corporal con relación a la edad en semanas de la especie y línea del modelo biológico.....	85

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Curva de regresión ajustada para los Alcaloides de Carrasquilla (<i>Berberis hallii</i>).	63
GRÁFICO No. 2	Curva de regresión ajustada para los Flavonoides de Carrasquilla (<i>Berberis hallii</i>).	64
GRÁFICO No. 3	Efecto Antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de Carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg y Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno Sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la primera hora de administración.	70
GRÁFICO No. 4	Efecto antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de Carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg y Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la segunda hora de administración.....	71
GRÁFICO No. 5	Efecto antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de Carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg y Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la cuarta hora de administración.....	72
GRÁFICO No. 6	Efecto antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de Carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg; Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la sexta hora de administración.	73
GRÁFICO No. 7	Efecto antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de Carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg; Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la octava hora de administración.....	74
GRÁFICO No. 8	Efecto antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg; Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la décima hora de administración.	75
GRÁFICO No. 9	Efecto antiinflamatorio a diferentes concentraciones de los extractos etanólico de Carrasquilla. Grupo A (114,47) mg/kg; Grupo B (68,68) mg/kg; Grupo C (45,78) mg/kg y Naproxeno sódico 16 mg/kg sobre el edema subplantar inducido por carragenina 0,5 % en ratas a la doceava hora de	

	administración.....	76
GRÁFICO No. 10	Porcentajes de inflamación del Grupo Control para cada tiempo (Horas).....	77
GRÁFICO No. 11	Porcentaje de inflamación del edema plantar al evaluar la actividad antiinflamatoria con el extracto de los tallos de Carrasquilla (<i>Berberis hallii</i>) a diferentes concentraciones.....	78
GRÁFICO No. 12	Porcentaje de inhibición durante la actividad antiinflamatoria con el extracto de los tallos de Carrasquilla (<i>Berberis hallii</i>) a diferentes concentraciones.	79
GRÁFICO No. 13	Resultado estadístico de comparación entre pares de medias para el porcentaje de inflamación aplicando Tukey.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Carrasquilla (<i>Berberis Halliii</i>).....	3
FIGURA No. 2	Estructura Química Iónica de la Berberina.....	7
FIGURA No. 3	Tamizaje Fitoquímico de alcaloides de <i>Berberis halliii</i> ...	15
FIGURA No. 4	Cromatografía de alcaloides de <i>Berberis halliii</i>	15
FIGURA No. 5	Estructura Química de alcaloides de <i>Berberis halliii</i>	16
FIGURA No. 6	Tamizaje fitoquímico de flavonoides de <i>Berberis halliii</i>	17
FIGURA No. 7	Cromatografía de Flavonoides de <i>Berberis halliii</i>	18
FIGURA No. 8	Visión general de la migración leucocitaria.....	23
FIGURA No. 9	Metabolitos del ácido araquidónico.....	25
FIGURA No. 10	<i>Rattus novergicus</i>	31
FIGURA No. 11	Fraccionamiento del Extracto de Tallos de <i>Berberis halliii</i> y obtención de Alcaloides y Flavonoides.....	48
FIGURA No. 12	Diluciones 5:10 para leer su Absorbancia.....	49

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Carrasquilla.....	1
FOTOGRAFÍA No. 2	Flores y Hojas.....	104
FOTOGRAFÍA No. 3	Frutos.....	104
FOTOGRAFÍA No. 4	Tallo (Materia Prima).....	104
FOTOGRAFÍA No. 5	Maceración.....	105
FOTOGRAFÍA No. 6	Concentración.....	105
FOTOGRAFÍA No. 7	Extracto Concentrado.....	105
FOTOGRAFÍA No. 8	Densidad Relativa.....	105
FOTOGRAFÍA No. 9	Índice de Refracción.....	105
FOTOGRAFÍA No. 10	pH.....	105
FOTOGRAFÍA No. 11	Color.....	106
FOTOGRAFÍA No. 12	Olor y Aspecto.....	106
FOTOGRAFÍA No. 13	Extracción de Alcaloides.....	106
FOTOGRAFÍA No. 14	Extracción de Flavonoides.....	106
FOTOGRAFÍA No. 15	Dilución para Alcaloides.....	106
FOTOGRAFÍA No. 16	Dilución para Flavonoides.....	106
FOTOGRAFÍA No. 17	Lectura de Alcaloides y Flavonoides.....	107
FOTOGRAFÍA No. 18	Grupos experimentales de ratas (<i>Rattus novergicus</i>): Control positivo (Naproxeno sódico 16 mg/kg), Control negativo (carragenina 0,5%), extracto de Carrasquilla Grupo A (114,47mg/kg), Grupo B (68,68 mg/kg) y Grupo C (45,78 mg/kg).....	107
FOTOGRAFÍA No. 19	Toma de pesos de animales de experimentación.....	108
FOTOGRAFÍA No. 20	Administración del extracto.....	108
FOTOGRAFÍA No. 21	Formación del edema.....	109
FOTOGRAFÍA No. 22	Acción del antiinflamatorio.....	109
FOTOGRAFÍA No. 23	Grupo A (114,47mg/kg).....	109
FOTOGRAFÍA No. 24	Grupo B (68,68mg/kg).....	109
FOTOGRAFÍA No. 25	Grupo C (45,78mg/kg).....	109
FOTOGRAFÍA No. 26	Análisis macroscópico del estómago, hígado y riñones del Blanco.....	110
FOTOGRAFÍA No. 27	Análisis macroscópico del estómago, hígado y riñones del Grupo A (114,47mg/kg).....	110
FOTOGRAFÍA No. 28	Análisis macroscópico del estómago, hígado y riñones del con la dosis de (2000mg/kg).....	110
FOTOGRAFÍA No. 29	Mediciones del estómago, hígado y riñones de las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).	111
FOTOGRAFÍA No. 30	Examen histopatológico del estómago, hígado y riñones de las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).....	112

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Identificación y recolección de los tallos de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	104
ANEXO No. 2	Obtención del extracto etanólico de los tallos de Carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	105
ANEXO No. 3	Parámetros de calidad del extracto etanólico de los tallos de Carrasquilla (<i>Berberis Halliii</i>).	105
ANEXO No. 4	Extracción de alcaloides y flavonoides del extracto etanólico de los tallos de carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	106
ANEXO No. 5	Lecturas en el espectrofotómetro de alcaloides y flavonoides carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).	106
ANEXO No. 6	Evaluación de la actividad antiinflamatorio del extracto de carrasquilla (<i>Berberis halliii</i>).....	107
ANEXO No. 7	Administración del extracto de Carrasquilla a las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).	108
ANEXO No. 8	Formación del edema plantar en las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).....	109
ANEXO No. 9	Análisis macroscópico del estómago, hígado y riñón derecho de los animales de experimentación del Grupo A (114,47mg/kg) y Grupo con dosis toxica (2000mg/kg).	110
ANEXO No.10	Mediciones del estómago, hígado y riñones de las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).....	111
ANEXO No. 11	Examen histopatológico del estómago, hígado y riñones de las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).	111
ANEXO No. 12	Tamizaje Fitoquímico de alcaloides de <i>Berberis halliii</i> , Tesis BQF. Silva Carolina.....	112
ANEXO No. 13	Tamizaje Fitoquímico de flavonoides de <i>Berberis halliii</i> , Tesis BQF. Sánchez María.....	113

INTRODUCCIÓN

El 80% de la población mundial, utiliza las plantas como principal remedio medicinal, según nos señala la OMS. No hay que olvidar que el 25% de los fármacos existentes se obtienen de extractos vegetales, o bien se han sintetizado a partir de sustancias encontradas en la investigación fitoquímica, en sí, la base de los medicamentos son las drogas vegetales, cabe recalcar que el término droga vegetal no debe confundirse con el de planta medicinal. La OMS definió en 1978 estos conceptos como se indica a continuación:

- Planta medicinal, es cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica.
- Droga vegetal, es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica.
- Principios activos, son las sustancias responsables de la acción farmacológica.

Entre los antiinflamatorios más conocidos y utilizados se encuentran: el Ibuprofeno, el Diclofenaco, el Naproxeno, el Piroxicam, e incluso la Aspirina (ácido acetil salicílico), entre otros. Se estima que cada año por cada 1000 personas que toman un antiinflamatorio, aparecen 13 complicaciones digestivas graves.

La especie *Berberis hallii* se caracteriza por tener alcaloides y flavonoides, que son responsables en parte de las propiedades farmacológicas. En el Ecuador están representadas 32 especies: *Berberis chillacochensis* Camargo, *B. chimboensis* C. Schneider, *B. conferta* H.B.K., *B. engleriana* C. Schneider, *B. farinosa* Benoist, *B. glauca* Kunth, *B. grandiflora* Turcz., *B. hallii* Benoist, *B. hirtellipes* Ahrendt, *B. hyperythra* Diels, *B. jamesonii* Lindley, *B. laidivo* Camargo, *B. lechleriana* C. Schneider, *B. lehmannii* Hieron., *B. lobbiana* C. Schneider, *B. loxensis* Benth., *B. lutea* Ruiz & Pavón, *B. minzaensis* Camargo, *B. multiflora* Benth., *B. paniculata* Juss., *B. papillosa* Ahrendt,

B. pectinata Hieron., *B. pichinchensis* Turcz., *B. pindilicensis* Hieron., *B. quinduensis* H.B.K., *B. reicheana* C. Schneider, *B. retinervia* Triana & Planchon, *B. rigida* Hieron., *B. saxorum* Ahrendt, *B. schwerinii* C. Schneider, *B. spruceana* (C. Schneider) Ahrendt y *B. warszewiczii* Hieron., todas sobre los 2000 m.s.n.m y especialmente en el subpáramo.

Berberis hallii es un arbusto que se encuentra a 2500 – 3000 metros en los Andes; localizadas en los páramos de Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Pichincha y Tungurahua. De acuerdo a la revisión etnofarmacológica del género *Berberis* son empleadas como: hemostático, diurético, vasodilatador, hipertensor, antibacteriano (mata las bacterias y parásitos), y antiinflamatorio este último evaluado a través de la inhibición del edema inducido por carragenina.

El género *Berberis hallii* se caracteriza por poseer en sus tallos un alcaloide que ha sido químicamente definido como Berberina y flavonoides que son responsables en parte de las excelentes propiedades antiinflamatorias del extracto, el mecanismo que se emplea es la inhibición de la liberación de ácido araquidónico del que se deriva las prostaglandinas, inhibe la liberación de tromboxano A₂ plaquetario, e inhibe la formación de trombos.

Al evaluar el grado de toxicidad de la dosis efectiva empleando el ensayo de toxicidad aguda a dosis fijas se determina la dosis letal media y si la administración prolongada de esta sustancia produce efectos adversos sobre el estómago, hígado y riñones realizando observación de los signos clínicos y peso de los animales de experimentación para establecer si presenta efectos nocivos a dosis altas 2000mg/Kg realizando su respectivo estudio histopatológico de los grupo tratados.

En este trabajo se realiza una evaluación *in vivo* del efecto antiinflamatorio de *Berberis hallii*, mediante el modelo biológico de edema de pata en ratas inducida por carragenina, con el objeto de buscar una mayor eficacia antiinflamatoria a diferentes concentraciones del extracto; también se determinó el contenido de flavonoide y alcaloides, mediante análisis espectroscópicos (UV), del sub-extracto butanólico y cloroformico respectivamente, obtenido del extracto total de *Berberis hallii*. Se obtendrá resultados positivos mediante la disminución del edema en pata de rata similar al Naproxeno sódico.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. CARRASQUILLA (*Berberis hallii*)



FOTOGRAFÍA N^o. 1 CARRASQUILLA

La carrasquilla es un arbusto espinoso, pertenece a la familia Berberidaceae, tiene los tallos leñosos rectos y ramificados, las hojas son ovales, sus flores son amarillas y los frutos son unas pequeñas bayas ovaladas de color rojo brillante, dispuestas en racimos, que al madurar toman un color rojo azul oscuro. (17) (20)

Esta planta se ha utilizado desde épocas muy antiguas para los trastornos digestivos, infección, indigestión, inflamación, enfermedad de la vesícula biliar, reflujo gastroesofágico y varias molestias más. (28) (38)

La carrasquilla, *Berberis hallii*, es un arbusto polifacético en cuanto a sus aplicaciones, pues además de propiedades medicinales, ha gozado de interés en el sector de la alimentación, textil y jardinería. Con sus frutos maduros se preparaban bebidas

refrescantes de sabor agridulce, de llamativo color rojizo, además de confituras y helados. Sus flores son excelentes para la producción de miel. (28) (38)

Muchas especies de este género son adecuadas en jardinería para la formación de setos. Los tintoreros la aprecian por sus raíces, que son sangradas para extraer el líquido de intenso color amarillo con que teñir tejidos. (36)

1.1.1 HISTORIA

El género *Berberis*, se ha utilizado en la medicina popular o nativa de India por siglos, y los chinos han empleado la Berberina, un constituyente de la *Berberis*, desde tiempos antiguos. El primer uso documentado disponible de la Berberina fue en 1933 para el tracoma (enfermedad infecciosa de los ojos). (29)

Históricamente se utilizó de forma común por sus propiedades anti-diarreicas y antibióticas, se considera tónico, purgante y antiséptico, reduce la fiebre, ayuda a relajar los vasos sanguíneos y reducen la presión arterial. En Irán, la *Berberis vulgaris*, se utiliza para reducir el edema, y en Francia, su corteza se utiliza en la hipertensión. (29)

A través de la historia, la Berberina, un alcaloide que se encuentra en el género *Berberis*, ha despertado gran interés, tiene efectos promisorios como anti-inflamatorio, anti-neoplásico (anti-cáncer), hipoglicémico (reductor de azúcar en la sangre) y como modulador del sistema inmunológico. (29)

Este arbusto, a pesar de todas las virtudes, ha pasado por tiempos en que llegó a ser aborrecido, ya que se le atribuía la propagación de la roya de los cereales, por ello era eliminado o desterrado de los campos sembrados en la creencia de que así se evitaban los devastadores efectos de las plagas; cuando se constató que la roya se propagaba igualmente sin su presencia volvió a recuperar su buen nombre. (36)

El género *Berberis* consta de más de 500 especies ampliamente distribuidas, pero mejor representadas en los Himalayas, el oeste de China y en los Andes. En el Ecuador están

representadas 32 especies: *Berberis chillacochensis* Camargo, *B. chimboensis* C. Schneider, *B. conferta* H.B.K., *B. engleriana* C. Schneider, *B. farinosa* Benoist, *B. glauca* Kunth, *B. grandiflora* Turcz., *B. hallii* Benoist, *B. hirtellipes* Ahrendt, *B. hyperythra* Diels, *B. jamesonii* Lindley, *B. laidivo* Camargo, *B. lechleriana* C. Schneider, *B. lehmannii* Hieron., *B. lobbiana* C. Schneider, *B. loxensis* Benth., *B. lutea* Ruiz & Pavón, *B. minzaensis* Camargo, *B. multiflora* Benth., *B. paniculata* Juss., *B. papillosa* Ahrendt, *B. pectinata* Hieron., *B. pichinchensis* Turcz., *B. pindilicensis* Hieron., *B. quinduensis* H.B.K., *B. reicheana* C. Schneider, *B. retinervia* Triana & Planchon, *B. rigida* Hieron., *B. saxorum* Ahrendt, *B. schwerinii* C. Schneider, *B. spruceana* (C. Schneider) Ahrendt y *B. warszewiczii* Hieron. (7)

1.1.2 HÁBITAD

El hábitat del vegetal es espontáneamente en zonas abrigadas y aun frías de la región centro y sur de Ecuador, localizado en los páramos de Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Pichincha, y Tungurahua, es común en las regiones subandinas secas del país, nace de forma natural en espinares, zonas abiertas, linderos de los campos, suelos calizos y pedregosos, todas sobre los 2000 m.s.n.m. (5) (7) (38)

1.1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA



FUENTE: BERBERIS <http://notasdenuestrosaliens.blogspot.com/2010/08/agracejo-zarzoso-de-mayo-junio-exas-tu.html>

FIGURA N.º 1 CARRASQUILLA (*Berberis hallii*)

Nombre común o vulgar: Carrasquilla, Chinia, Espino, Espuela casa. (45)

Es un arbusto caducifolio muy espinoso, de hasta 2 metros de altura, de color amarillo-púrpura en las ramitas más jóvenes. El nombre científico de esta planta (*Berberis*) deriva del griego y se debe a la forma y característica de sus flores, de color amarillo intenso. (47)

A partir del segundo año los tallos de este arbusto son leñosos, madera color amarillo intenso, alcanza hasta los 3 m de altura, son rectos, ramificados con la corteza de color ceniza y con espinas trífidas muy características. (47)

Las hojas son ovales, alternas, con peciolo cortos de unos 3 cm de longitud, posee brillo y espinos en los bordes, nacen en montones, en la axila de espinas largas, de forma que las de más de un año se van transformando en espinos con un largo de 2 y 15 cm. (17) (28) (64)

Las flores son de color amarillo intenso que se agrupan en racimos colgantes de hasta 5 cm de largo, que cuenta con tres pétalos y seis estambres dotados de una especial sensibilidad, de modo que cuando la cara interna de los filamentos es excitada mecánicamente por la trompa de un insecto, las antenas se curvan bruscamente hacia el interior y depositan el polen sobre el insecto. Aparecen entre Mayo y Junio. (17) (28) (47)

El fruto de este arbusto es una baya de aspecto alargado, de forma elipsoidal, de 1,5 cm de largo que puede ser de color rojo brillante o negro-azulado (la coloración de esta última es la que tiene el fruto de la carrasquilla, *Berberis hallii*, en la zona del Ecuador), y que aparece cubierta de una capa cerosa que se desprende cuando se toca, son ácidas pero de sabor agradable, es posible encontrarlas en otoño o finales del verano. (17) (20) (47)

1.1.4 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

TABLA N.º 1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA CARRASQUILLA, (*Berberis hallii*).

Nombre Científico	<i>Berberis hallii</i>
Reino	<i>Plantae</i>
Phylum	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Ranunculales</i>
Familia	<i>Berberidaceae</i>
Género	<i>Berberis</i>
Epíteto Específico	<i>Hallii</i> . (38) (45)

FUENTE: BERBERIS http://www.biovirtual.unal.edu.co/nombrescomunes/buscadord/bnc_plants/results/t;cientifico/q:Berberishallii

1.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE CARRASQUILLA

Toda la planta, exceptuando el fruto, contiene un alto porcentaje de alcaloides del 2-3%, derivados de la isoquinolina, también contiene taninos y saponinas. Algunos de los alcaloides son amarillos, de ahí el color de la madera, el más abundante es la Berberina, se asemeja a la morfina el alcaloide más importante del opio y las acciones que ejerce son similares, aunque no iguales. (45)

Específicamente las raíces contienen: Berberina junto con la Berbamina y la Magnoflorina. (38)

Las cortezas de la raíz contienen: Berberina y la Oxycatina principios amargos cristalizables con uso en la antigua medicina y en los tiempos actuales por la industria farmacéutica para la fabricación de laxantes, así como para tratar perturbaciones hepáticas y biliares. (38)

El fruto contiene: Dextrosa, glucosa, levulosa, fructosa, ácido málico y tartárico (a lo que debe su sabor ácido), goma, pectina, vitamina C. Contiene antocianinas; delphinidina-3glucósido, cianidina-3 glucósido, peonidina-3 glucósido, malvidina-3 glucósido; que le

otorgan colores rojos y morados, en sus frutos, además de actividad antiinflamatoria y hepatoprotectora. (38)

Sólo la corteza seca de las raíces y el tronco se utiliza en fines medicinales, *Berberis* se puede encontrar en el mercado bajo la forma de té, tintura, pastillas y ungüento, por lo general el porcentaje de Berberina de estos productos es entre el 8 y el 12%. (20) (72)

Según estudios realizados por V. Veresko vs kii y D. Shapiro manifiesta que en el género *berberis* se encuentran presentes flavonoides, como quercetina, kaempferol, apigenina y luteolina. (46) (51) (50)

1.1.5.1 Berberina

Es un alcaloide obtenido de plantas (raíces, rizomas y corteza) de las familias Ranunculaceae y Berberidaceae, incluyendo especies de los géneros *Berberis*, *Mahonia*, *Coptis*, *Thalictrum* e *Hydrastis*. (5)

La Berberina es una base cuaternaria actualmente estudiada como antiparasitario. Todas las bases cuaternarias son coloreadas y la intensidad del color es un indicio de la posición de los sustituyentes en el anillo D. (37)

- Propiedades físicas y químicas

Sólido cristalino en forma de agujas, de color amarillo. Su punto de fusión es igual a 145 °C. Es soluble en agua y etanol, pero insoluble en benceno, éter y cloroformo. Su solubilidad estimada en agua es de 0.116 mg/L a 25 °C o de 3.53×10^{-4} mg/L. Su forma aislada se presenta siempre como una sal ácida (hidrocloruro, sulfato o sulfato ácido). Frecuentemente su sal cristaliza como solvato (hidrato). (37)

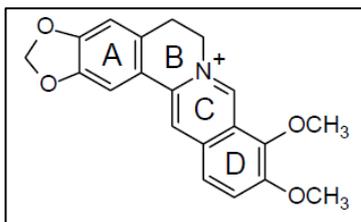
- **Nombre químico (IUPAC)**

9,10-Dimetoxi-5,6-dihidro[1,3]dioxolo[4,5-g]isoquino[3,2-a]isoquinolin-7-ión
7,8,13,13a-Tetrahidro-9,10-dimetoxi-2,3-[metilendioxi]berberinio. (37)

- **Sinónimos**

Rizoma de Coptis; Umbellatina; Umbellatine; Umbellatin; Thalsine; Majarine; Berberinium, 7,8,13,13a-tetrahidro-9,10-dimetoxi-2,3-(metilendioxi)-; Berberine; Berberin; 9,10-Dimetoxi-2,3-(metilendioxi)-7,8,13,13a-tetrahydroberberinio; Benzo(g)-1,3-benzodioxolo(5,6-a)quinolizinio, 5,6-dihidro-9,10-dimetoxi-; catión 5,6-dihidro-9,10-dimetoxibenzo[g]-1,3-benzodioxolo[5,6-a]quinolizinio. (37)

- **Estructura química**



FUENTE: BERBERINA http://flora.huh.harvard.edu/FloraData/060/PDF/V01/Volume1-Part1_Berberis.pdf
FIGURA N.º. 2 ESTRUCTURA QUIMICA IÓNICA DE LA BERBERINA

- **Fórmula química:** C₂₀H₁₈NO₄⁺

- **Peso molecular:** 336.37

- **Clasificación:** Alcaloide isoquinolínico.(37)

- **Toxicidad para los organismos y el medio ambiente**

Este compuesto presenta actividad bacteriostática, bactericida, fungicida, antiviral, antiprotozoaria (antimalarica) e insecticida. En diferentes tipos de microorganismos inhibe el metabolismo, la formación de endotoxinas y la adherencia que permite la colonización de la piel y las mucosas. (37) (67)

Es muy tóxica por lo que hay que manejarla con precaución, ya que se ha descrito un efecto oxiótico (contraindicado en el embarazo), por ello su potencial de toxicidad por la presencia de estos alcaloides con acción citotóxica, la intoxicación se manifiesta por medio de náuseas, diarrea, epistaxis y afección renal. (30) (43)

Recientemente se ha evaluado la actividad antifúngicas de Berberina, alcaloide que fue aislado de *Berberis heterophylla*, especie autóctona de la Patagonia Austral. La actividad encontrada para Berberina en varios aislados clínicos de *Candidas* fue significativa, aunque moderada. Para completar su estudio y evaluar sus alcances y limitaciones como agente antifúngicas, se evaluó su actividad *in-vivo*, utilizando cobayos como modelo de animales. Además se estudió su potencial toxicidad utilizando un ensayo de toxicidad aguda en peces y también un test de citotoxicidad empleando cultivo de linfocitos. (26)

El estudio de toxicidad aguda indica que Berberina es sustancialmente menos tóxica si se la compara con Ketoconazol. También los estudios de citotoxicidad muestran que Berberina es menos tóxica que Ketoconazol y Anfotericina B. Estos resultados señalarían que Berberina es una excelente "estructura de partida" para la búsqueda y desarrollo de nuevos agentes antifúngicos. (26)

1.1.6 APLICACIONES DEL GÉNERO *Berberis*

1.1.6.1 Aplicaciones medicinales

El alcaloide más poderoso del género *Berberis* es la Berberina, que también se sabe que tiene una serie de efectos terapéuticos mencionados a continuación: (32)

- Como la Berberina es un anti bacteriano muy eficaz, se usa para combatir infecciones como la de *Helicobacter pylori*, que está asociada con la gastritis y la úlcera péptica, y para tratar infecciones por levaduras, como las aftas (*Candida albicans*). (32)
- El *Berberis* suele usarse principalmente para la diarrea de origen bacteriano, diarrea del viajero e infecciones por parásitos. (32)

- La Berberina actúa también sobre la vejiga estimulando la secreción de bilis, que arrastra los residuos fuera del hígado (rectificar los desórdenes del hígado como la ictericia y los cálculos). (32)
- Se sabe también que esta sustancia actúa como un inhibidor de la COX 2, externamente por sus propiedades antiinflamatorias, sirve para tratar ojos doloridos o irritados, eccema, psoriasis, reumatismo, hepatitis, posee una acción desinflamante de los riñones, gota (inflamación del pie) y muchos otros tipos de inflamaciones. (32)

Una decocción de 50 gramos de hojas de *Berberis vulgaris* en un litro de agua; se mantiene unos minutos y se deja enfriar, se puede beber durante el día, para que remita la fiebre. Asimismo se puede usar como refrescante intestinal, preparando la infusión de la misma forma y con la misma dosificación. (33)

1.1.6.2 Aplicaciones culinarias

El fruto se emplea para preparar mermeladas y dulces, se los puede consumir frescos o secos, en los últimos años se ha usado para preparar una torta de exquisito sabor y de gran demanda en las pastelerías, además pueden servir para elaborar diversas bebidas refrescantes y vinos medicinales aperitivos. (35) (59)

1.1.6.3 Aplicaciones en la industria textil

Los tintoreros la aprecian por sus raíces y leños, que son sangradas para extraer el líquido de intensa color amarillo con que tiñe sus tejidos. Este color se le atribuye a que la mayoría de alcaloides son amarillos. Este principio colorante ha sido químicamente definido como Berberina. (35)

1.1.7 ESTUDIOS CLÍNICOS

1.1.7.1 Actividad antiinflamatoria

Estudios in vitro demuestran que la Berberina inhibe la proteína activadora de 1 (AP-1), siendo el factor clave de las Naciones Unidas en la transcripción para evitar la inflamación y la carcinogénesis. Otros estudios, utilizando linfocitos humanos, demostraron que la Berberina ejerce sin efecto inhibitorio significativo sobre la transformación linfocitaria, concluyendo que la acción antiinflamatoria puede deberse a una inhibición de la síntesis en los linfocitos activados. Un tercer estudio concluyó que durante la actividad plaquetaria en respuesta al daño tisular, la Berberina ejerce efecto directo en diversos aspectos del proceso inflamatorio. Inhibe la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana celular, inhibe la liberación de tromboxanos A2 plaquetario, e inhibe la formación de trombos. (49)

1.1.8 ACTIVIDAD FARMACOLOGÍA

La parte más usada es la raíz, tallos y corteza, que se cree tienen la mayor cantidad de alcaloides y que se le atribuye ciertas propiedades farmacológicas. Los alcaloides como la Berberina le brindan un poder antiinflamatorio. (72)

Se comprobó que el extracto etanólico de los tallos de Carrasquilla no presenta actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC N° 9637, *Candida albicans* ATCC N°10231, *Pseudomona aeruginosa* ATCC N° 27853, y *Staphylococcus aureus* ATCC N°6538. (6)

1.1.9 APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE CARRASQUILLA

La carrasquilla es una planta no muy estudiada sin embargo se ha demostrado tener alcaloides que poseen actividad en diversos campos medicinales. Desde la antigüedad ha sido utilizado por los indígenas americanos para tratar estómagos ulcerados, encías ulceradas y dolores de garganta. Los usos tradicionales ayurvédicos del vegetal incluyen,

para debilidad, fiebre, disentería, colitis, ictericia y agrandamiento del hígado, etc. (43)
(44)

1.1.10 PRECAUCIONES

Debido a que no existe estudios respecto a las precauciones que se debe tomar al usar carrasquilla, nos guiaremos con las precauciones del genero *Berberis vulgaris* debido a que las dos especies contienen un mismo alcaloide (Berberina) similar a la morfina, sustancia que se debe usar con mucha prudencia. (63)

- Las mujeres embarazadas no deben utilizar esta planta, porque puede estimular las contracciones uterinas y provocar aborto. (63)
- Aunque se utiliza a veces para la diarrea en niños, debe ser utilizado solamente bajo supervisión de un médico cualificado. (63)
- Las dosis altas tienen un efecto laxante de gran alcance. El Berberis dilata los vasos sanguíneos, así que puede disminuir la presión sanguínea. (63)
- La sobredosis puede provocar sangrado por la nariz, vómitos, diarrea, confusión, problemas en el riñón. (63)
- La Berberina puede alterar la manera en que algunos fármacos se metabolizan en el cuerpo. Por ejemplo, un estudio publicado en el European Journal of Pharmacology encontró que la Berberina elevó la cantidad de ciclosporina A en pacientes con trasplante de riñón. (63)

1.2 EXTRACTOS

1.2.1 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINALES

Para lograr una concentración adecuada de los principios activos contenidos en las plantas y que su acción sea más efectiva es necesario realizar diversos procedimientos mediante los cuales sean extraídos aquellos con solventes adecuados que se seleccionan de acuerdo a la solubilidad y la estabilidad que posean las sustancias beneficiosas. (58)

Los métodos de extracción permiten obtener los productos en formas farmacéuticas adecuadas para su administración oral o externa de acuerdo al lugar de acción que se recomiende. Los métodos de extracción más utilizados son:

1. Maceración
2. Percolación o lixiviación. (58)

1. Maceración

El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto. (58) (8)

2. Percolación o lixiviación

El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el recipiente percolador. El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar el extracto. (58)

1.2.2 PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal, por ejemplo:

- **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer. (60)

- **Selección del solvente:** definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés. (60)
- **Relación sólido-líquido:** la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción. (60)
- **Tamaño de partícula del sólido:** de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción. (60)
- **Temperatura:** el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstruo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables. (60)
- **Velocidad de agitación y tiempo de extracción:** los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones. (60)
- **Viscosidad del medio:** no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta. (60)

1.3 SUSTANCIAS ACTIVAS

Se estudian mediante la química botánica. La raíz, tallos y la corteza de Carrasquilla contienen una buena cantidad de alcaloides (Berberina) que se considera importante para tratar inflamaciones, además de flavonoides y antocianinas que se los puede encontrar en los frutos, usados en el área de los textiles y muy poco en el tratamiento de enfermedades como en las inflamaciones. Se detectan hoy en día mediante manipulación química como la cromatografía, UV, lectura en el espectrofotómetro de las bandas. (23) (25)

1.3.1 ALCALOIDES EN *Berberis hallii*

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas, con propiedades básicas, de origen vegetal en su mayoría y acción fisiológica energética (medicinal o venenosa), la microquímica ha permitido mostrar en forma general, que los alcaloides son localizados en el recubrimiento de las semillas, corteza del tallo, raíz o fruto y en la epidermis de la hoja; al estado libre o como glicósidos, o formando sales con ácidos orgánicos. Esto nos permite pensar que los alcaloides cumplen una importante función como es la de proteger a la planta, por su sabor amargo de estos, del ataque de insectos. (19)

El género *Berberis hallii* es una especie Ecuatoriana interesante, actualmente mediante investigaciones realizadas con esta especie se ha encontrado que las raíces de Carrasquilla son ricas en alcaloides descrito en el trabajo de CAROLINA SILVA (2010), titulado “Cuantificación de alcaloides de *Berberis hallii*” realizado en la ESPOCH y asesorada por la Dra. Cumandá Játiva. (25)

Por primera vez CAROLINA SILVA separa los alcaloides de *Berberis hallii*, a partir del extracto total de Carrasquilla, el cual es basificado y sometido a un solvente de baja polaridad como el cloroformo en el cual son solubles los alcaloides que se encuentran en forma de bases. (25)

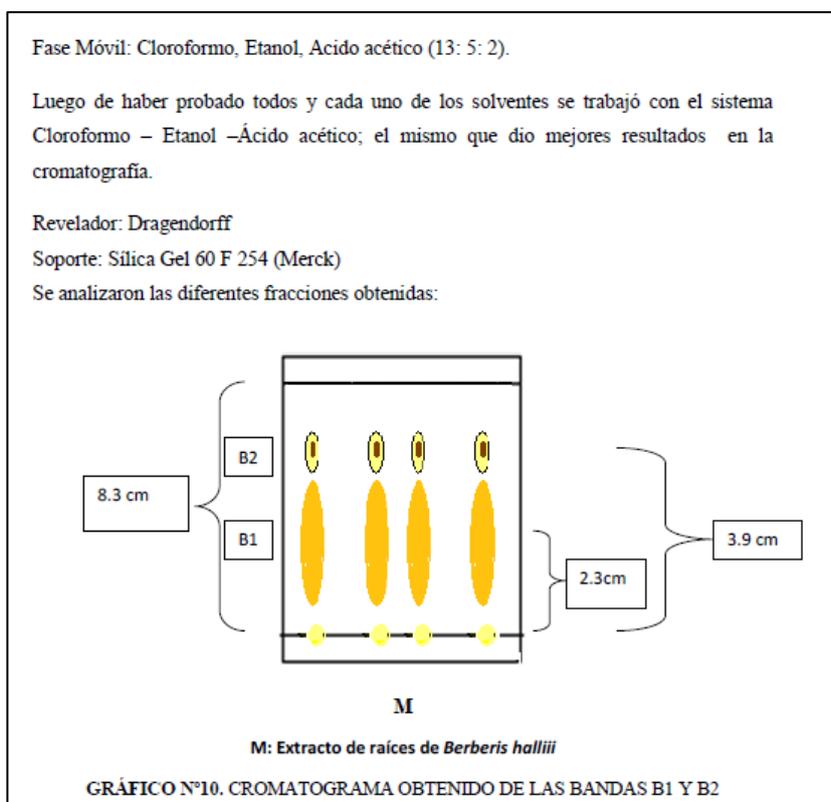
La metodología adecuada y utilizada para identificar y cuantificar los alcaloides isoquinolínicos del género *Berberis hallii* implica el Tamizaje Fitoquímico (utiliza el reactivo de Dragendorff, Wagner y Mayer como indicadores de la presencia de alcaloides, dando estos a la vez positivos) (Figura 3), cromatografía de capa fina (Figura 4), fraccionamiento, de bandas y análisis espectrofotométricos, este último para la identificación de los alcaloides se realiza por espectroscopia UV, aplica las reglas de Woodward-Fieser. Resultando tres metabolitos secundarios cuantificados e identificados como Berberina, Lambertina y Calafanina (Figura 5), provenientes de una base bencilisoquinolínicos en común. (25)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia, (+/-) Falsos Positivos

Ensayos	Raíces	Cortezas
Dragendorff	Opalescencia : (+++)	Opalescencia : (++)
	Turbidez definida (+++)	Turbidez definida (++)
	Precipitado: (+++)	Precipitado: (+++)
Wagner	Opalescencia : (++)	Opalescencia : (+++)
	Turbidez definida (++)	Turbidez definida (+++)
	Precipitado: (++)	Precipitado: (++)
Mayer	Opalescencia : (++)	Opalescencia : (+)
	Turbidez definida (++)	Turbidez definida (++)
	Precipitado: (+++)	Precipitado: (++)

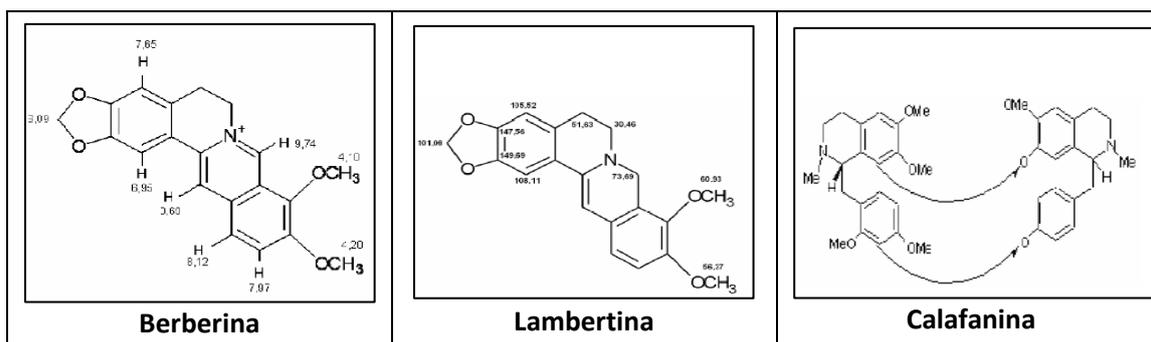
FUENTE: SILVA, C. 2010. Cuantificación de los alcaloides de *Berberis hallii* "Carrasquilla"

FIGURA N.º 3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE ALCALOIDES DE *Berberis hallii*



FUENTE: SILVA, C. 2010. Cuantificación de los alcaloides de *Berberis hallii* "Carrasquilla"

FIGURA N.º 4 CROMATOGRAFÍA DE ALCALOIDES DE *Berberis hallii*



FUENTE: SILVA, C. 2010. Cuantificación de los alcaloides de *Berberis hallii* "Carrasquilla"
FIGURA N.º 5 ESTRUCTURA QUÍMICA DE ALCALOIDES DE *Berberis hallii*

De los alcaloides Berberina, Lambertina y Calafanina, la Berberina es el alcaloide que posee aplicaciones de gran interés desde el punto de vista terapéutico es un antiinflamatorio, antitumoral, digestivo, etc. Y en el campo industrial debido a su propiedad tintórea se proyecta como un colorante natural en la gama de amarillos. (25)

1.3.2 FLAVONOIDES EN *Berberis hallii*

En general los flavonoides son pigmentos amarillos, presentes en las plantas especialmente en las partes aéreas; y se les encuentra en forma libre, como glicósidos, como sulfatos y algunas veces como dímeros y polímeros. (41) (50)

Los flavonoides tienen una estructura química muy definida son moléculas que tienen dos anillos bencénicos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, se los denominan simplemente como compuestos C₆C₃C₆. Los flavonoides se clasifican en varios grupos: Chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides, etc. (41) (50)

Según estudios realizados por MARÍA SÁNCHEZ, manifiesta que en el extracto de raíces de *Berberis hallii* nativo del Ecuador, se encuentran presentes flavonoides como la Luteolina, Apigenina y Antocianinas como: Delfinidina-3-glucósido, Petunidina-3-glucósido, Ponidina-3- glucósido y Malvidina-3- glucósido, dichos flavonoides fueron encontrados aplicando la regla Woodward- Fieser en los valores de λ obtenidas en cada

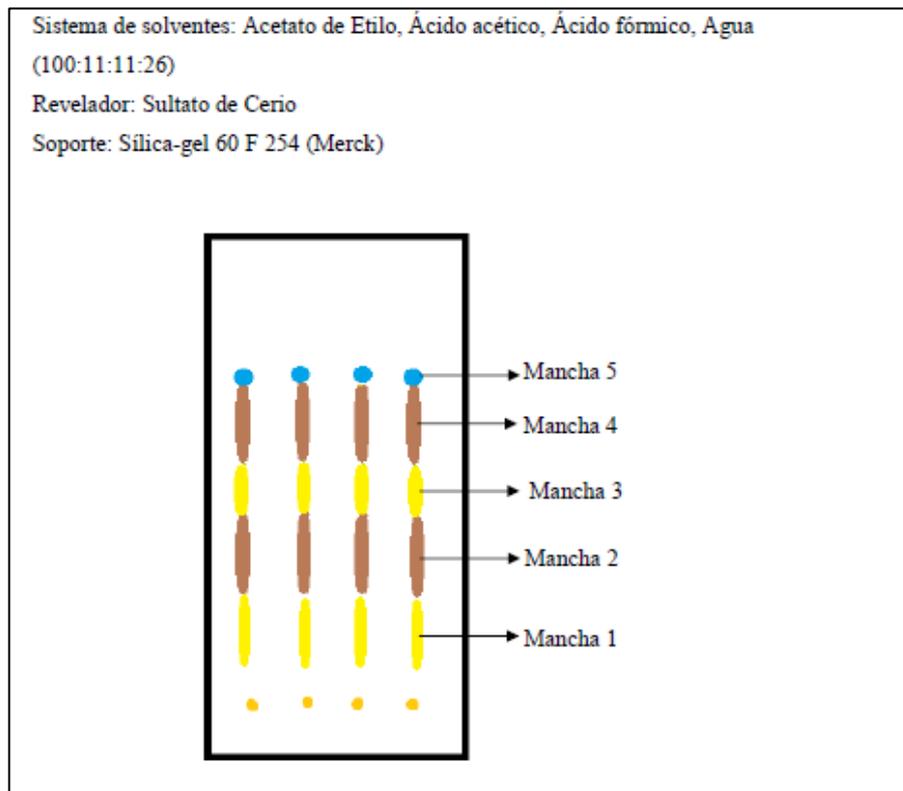
una de las bandas y comparadas con la referencia bibliográfica. Además comprobó que los flavonoides tienen actividad tintórea en fibra sintéticas (poliéster) y naturales (lana y algodón) con mordentado anterior y posterior, dando una gama de colores amarillos naturales que sustituirá a los artificiales con una gran ventaja de ser menos tóxicos para la naturaleza. (23)

El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorante natural y por sus potenciales beneficios en la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual además de esto se ha observado que posee actividad antiinflamatoria, antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, y hepatoprotectora. (23)

Para la identificación y cuantificación de flavonoides en *Berberis hallii* MARÍA SÁNCHEZ (2010), utiliza el Tamizaje Fitoquímica (Cloruro Férrico, Shinoda, Antocianinas y Fehling) (Figura 6), además separó, purificó e identificó los flavonoides mediante cromatografía de capa fina, encontrando los flavonoides ya mencionados anteriormente en la mancha 3 y 5 (Figura 7) y análisis espectroscópicos (UV) del sub-extracto que tiñó. (23)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia, (+/-) Falsos Positivos		
Ensayos	Raíces	Frutos
Cloruro Férrico (Compuestos fenólicos y Taninos)	Verde intenso (++)	Rojo vino (++)
Shinoda (Flavonoides)	Amarillo (+++)	Rojo (++)
Antocianinas	(++)	(+++)
Fehling (azúcares)	(++)	(++)

FIGURA N.º 6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE FLAVONOIDEOS DE *Berberis hallii*



FUENTE: SÁNCHEZ, M. 2010. Comprobación de la actividad tintórea en fibras orgánicas y sintéticas de la *Berberis hallii*. Tesis. Riobamba– Ecuador

FIGURA N.º 7 CROMATOGRAFÍA DE FLAVONOIDEOS DE *Berberis hallii*

1.4 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

1.4.1 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE

Fue una de las primeras técnicas que se aplicó para el análisis cuantitativo así como para el análisis de estructuras. Hoy solo tiene interés cuantitativo ya que para conocer la estructura molecular se tiene técnicas más resolutivas. (48)

Las regiones del espectro electromagnético que corresponden al visible- UV son:

170 - 250nm = UV lejano

250 - 350nm = UV próximo

350 – 1000nm = Visible (48)

1.5 INFLAMACIÓN

La inflamación es una lesión con una gran variedad de alteraciones morfológicas, además es la forma de manifestación de muchas enfermedades, frente a la agresión de un agente exterior, puede ir acompañado de todos o varios de los siguientes síntomas: dolor, enrojecimiento, aumento de la temperatura o edema. (57)

Los agentes causantes de la inflamación pueden ser:

- FACTORES ENDÓGENOS: Oxidantes, isquemias, complejo inmune, activación de mediadores químicos, necrosis tisular o rotura ósea. (53) (57)
- FACTORES EXÓGENOS: Agentes físicos: Traumatismo, quemaduras por electricidad, calor; Agentes Biológicos: Bacterias, virus, parásitos, hongos; Agentes Químicos: Corrosivos (yodo, ácidos). (53) (57)

La inflamatoria ocurre sólo en tejidos conectivos vascularizados por ejemplo cuando se produce una rotura de la piel o de las mucosa, los microorganismos pueden pasar del medio externo al interno, como reacción y en un intento de localizar el agente invasor se produce una reacción en el tejido conectivo vascularizado; reclutamiento, instrucción y envío de células; eliminación de microbios, cuerpos extraños y de células infectadas y/o dañadas; creación de barreras para evitar las metástasis microbianas, y la reparación del tejido lesionado por la agresión. (53) (57)

Una reacción frente a una agresión al organismo es necesario para la supervivencia, pero en muchas ocasiones dicha reacción puede ser excesiva y es capaz de producir daño, por lo que es necesario detener el proceso inflamatorio, mediante los fármacos antiinflamatorios. (4) (54)

Aulo Cornelio Celso en el siglo I A.C, señaló cuatro signos clínicos de la inflamación; Tumefacción, rubor (enrojecimiento), calor y dolor. Prontamente Galeno añadió el quinto signo; impotencia funcional. (54)

Actualmente se pueden reconocer 5 signos clínicos: Tumefacción consiste en el aumento del líquido intersticial y formación de edema (hinchazón). El rubor radica en enrojecimiento debido principalmente a los fenómenos de aumento de presión por vasodilatación. El calor establece el aumento de la temperatura de la zona inflamada, se debe a la vasodilatación y al incremento del consumo local de oxígeno. El Dolor aparece como consecuencia de la liberación de sustancias capaces de provocar la activación de los nociceptores, tales como las prostaglandinas. Y por ultima la impotencia funcional. (54)

El procedimiento inflamatorio consiste en la extravasación de líquido y células (polimorfonucleares, linfocitos y monocitos) hacia un sitio definido, en donde ocurre, en mayor o menor grado, lisis de células y destrucción de componentes de la matriz extracelular. De acuerdo a su comportamiento temporal, la inflamación puede ser aguda o crónica. (54)

1.5.1 INFLAMACIÓN AGUDA

La inflamación aguda es de corta duración (minutos, horas y unos pocos días) y sus características principales son la exudación de líquido, y la migración de leucocitos sobre todo neutrófilos al sitio de la lesión. La función de los leucocitos es netamente defensiva, es decir fagocita y destruye el agente injuriante, las células necróticas y a los antígenos extraños. (18) (54)

Entre las manifestaciones clínicas de la inflamación aguda se encuentra; el enrojecimiento y el calor, son consecuencia de la vasodilatación y el aumento del flujo sanguíneo en la parte infiltrada. La hinchazón o aumento de volumen se debe a la acumulación del exudado causado por el aumento de permeabilidad. El dolor es la consecuencia de la presión sobre las terminaciones nerviosas por el edema y al efecto directo de mediadores químicos, liberados durante la respuesta. Por último, la pérdida funcional o impotencia, que se presenta en regiones cercanas al sitio de inflamación. (18) (54)

Entre los cambios vasculares que ocurren durante el proceso inflamatorio agudo se observan:

- a) Modificaciones en el calibre de los vasos que dan lugar al aumento en el flujo de sangre. (54)
- b) Aumento del número de capilares activos. (54)
- c) Cambios en la velocidad de flujo. (54)
- d) Alteraciones en la permeabilidad que permite la salida de la micrivascularura de las proteínas plasmáticas. (54)

Los cambios en el flujo y en el calibre vascular se inician en forma temprana después de la lesión y se desarrolla a diversas velocidades, dependiendo de la gravedad de la lesión. Entre los cambios tenemos la vasodilatación arteriolar y la disminución del flujo venular. En la vasodilatación arteriolar el flujo sanguíneo aumenta y la zona inflamada se observa enrojecida y caliente. Disminución del flujo venular, este retardo de la velocidad de la circulación de la sangre, se debe a la salida de líquido rico en proteínas (exudado) desde los vasos sanguíneos hacia el espacio intersticial. La formación de exudado es consecuencia del aumento de la permeabilidad vascular. Entre los mediadores de permeabilidad vascular se encuentra la histamina y bradiquina. (18) (54)

1.5.2 INFLAMACIÓN CRÓNICA

La inflamación crónica, en cambio es de mayor duración (semanas o meses) y sus características principales son: la presencia de macrófagos, linfocitos y de células plasmáticas; destrucción de tejidos, debido a la persistencia del agente y/o de las células inflamatorias; intentos de reconstrucción, reemplazando el tejido dañado con tejido conectivo, con proliferación de vasos sanguíneos (angiogénesis) y, sobre todo, fibrosis, es decir que el tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos. (54)

Es de sintomatología menor que la inflamación aguda, presenta menor vasodilatación y formación de exudado. La inflamación crónica puede ser consecuencia a una inflamación aguda o puede ser crónica desde el inicio. La transición entre la inflamación aguda a

crónica ocurre cuando el agente injuriante no es eliminado, es decir, la inflamación aguda no es resuelta. (53)(54)

Microscópicamente la inflamación crónica se caracteriza por la presencia de macrófagos y células epiteliales, linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos. (53)(54)

1.5.3 MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN

1.5.3.1 Migración leucocitaria

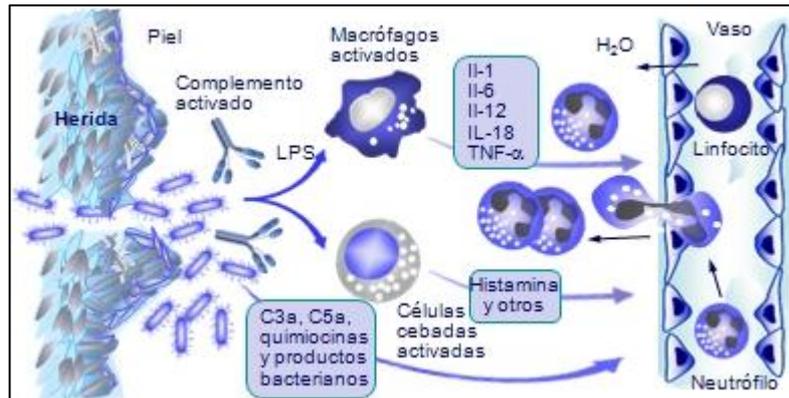
Inicialmente, en la inflamación aguda se acumulan predominantemente los leucocitos neutrófilos polimorfonucleares y en las fases tardías, los monocitos y macrófagos. Hay tres fases para el reclutamiento de las células en la región dañada, es decir, la extravasación o salida de las células desde la luz del vaso al espacio intersticial. (11) (53) (54)

Normalmente las células ocupan la parte central del torrente sanguíneo teniendo muy poco contacto con el endotelio. Al aumentar la permeabilidad vascular, el flujo sanguíneo se enlentece, lo que permite a los leucocitos acercarse al endotelio vascular. Este proceso se denomina marginación y se debe a los cambios hemodinámicos producidos en la inflamación (Figura 8). Los leucocitos escapan del torrente circulatorio mediante un movimiento ameboide activo. (11) (53) (54)

Cuando los leucocitos entran en contacto con la célula endotelial, proyectan pseudópodos y migran por la superficie hasta que detectan una unión celular interendotelial. Durante su paso desde la luz vascular al tejido extravascular, el leucocito rompe las uniones interendoteliales y la membrana basal probablemente a través de la secreción de colagenasa. El tipo de leucocito que migra depende mucho del tiempo que dura la inflamación y del tipo de estímulo. (11) (53) (54)

En la mayoría de los casos, en la inflamación aguda los neutrófilos son las células

predominantes durante las primeras 24 horas. Estas células empiezan a acumularse en los primeros minutos tras la lesión, mientras que los monocitos y macrófagos se acumulan más tarde, tras 24 horas. Después de la extravasación, los leucocitos migran en los tejidos a los lugares donde se ha producido la lesión mediante el proceso de quimiotaxis. (11) (53) (54)



FUENTE: INFLAMACIÓN http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_25.pdf
FIGURA N.º 8 VISION GENERAL DE LA MIGRACION LEUCOCITARIA

1.5.3.2 Células que intervienen en la inflamación

Las células que participan en el proceso inflamatorio pueden agruparse de la siguiente manera: Leucocitos polimorfonucleares (granulocitos); Polimorfonucleares neutrófilos (PMN); Eosinófilos; Basófiloleucocitos mononucleares; Monocito- macrófago; Linfocito, plasmocito o células plasmáticas; Mastocitos o células cebadas; Fibroblastos, Endotelio, etc. (54)

En la inflamación intervienen multitud de células pero entre ellas destacan los granulocitos neutrófilos y los fagocitos mononucleares. La vida de los neutrófilos es muy corta, sólo de 3 a 4 días. Algunos de los productos de los gránulos son bactericidas, mientras que otros son capaces de degradar la matriz proteica extracelular. (54)

Muchos de los neutrófilos mueren en los lugares de inflamación liberando enzimas que pueden dañar las células o las proteínas de la matriz extracelular. Los fagocitos mononucleares se diferencian en prácticamente todos los tejidos del organismo de

distinta manera, según el tejido que ocupan, dando lugar a macrófagos. Los macrófagos tienen una producción autocrina de factores de crecimiento tales como el GM-CSF o el M-CSF que hacen que proliferen localmente en los tejidos. Para llevar a cabo sus funciones, los macrófagos necesitan ser activados por el IFN-gama. (54)

1.5.3.3 Moléculas que intervienen en la inflamación

Además de las células directamente implicadas en la inflamación, como son los neutrófilos, macrófagos y linfocitos, los basófilos, mastocitos, plaquetas y células endoteliales también producen mediadores químicos (Tabla N^o 2), la mayoría de los mediadores duran muy poco en la circulación y ejerce su efecto a través de receptores. Hay dos tipos:

1. Mediadores tisulares.
2. Mediadores plasmáticos de la inflamación. (53) (54)

TABLA N^o 2. MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN.

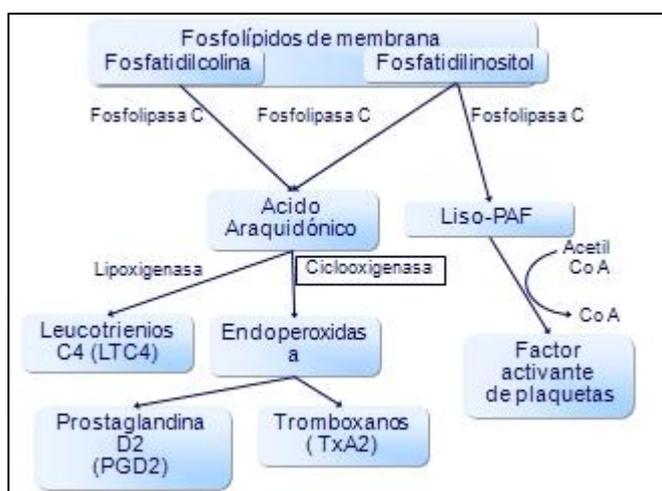
Mediadores de la inflamación	
Origen	Mediador
Mastocitos y basófilos	Histamina y serotonina
Kininógeno	Bradikinina
Fibrinógeno	Fibrinopéptidos
Complemento	C3a
Complemento	C5a
Membrana celular	Prostaglandinas
Leucocitos	Leucotrieno B ₄
Leucocitos, mastocitos	Leucotrieno C ₄ , D ₄ , E ₄
Leucocitos	Prot. Catiónicas lisosómicas
Leucocitos	Proteasas neutras lisosómica
Leucocitos	Metabolitos de oxígeno
Leucocitos y otras	Factor activador plaquetas
Macrófagos y otras	IL1, IL6, TNF- α
Macrófagos y otras	Óxido Nítrico

FUENTE: MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_25.pdf

1. Mediadores tisulares de la inflamación.

La activación de los mastocitos, basófilos y plaquetas estimula el metabolismo del ácido araquidónico. El ácido araquidónico formado puede seguir dos vías metabólicas, la de la enzima ciclo-oxigenasa que determina la producción de prostaglandinas (PG) y

tromboxanos y la de la lipooxigenasa que conduce a la formación de leucotrienos (LT) (Figura 9). (53)



FUENTE: FORMACIÓN DE LOS METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_25.pdf
FIGURA N.º.9 METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

Del ácido araquidónico derivan ciertos eicosanoides principales: prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI), tromboxanos (TXA2) y leucotrienos (LTC). La histamina y la serotonina, segregadas por mastocitos, basófilos y plaquetas, producen vasodilatación y aumentan la permeabilidad vascular. El PAF (Factor activador de plaquetas) es un complejo lisofosfolípido-acetilado que induce la agregación plaquetaria y la degranulación. Además, aumenta la permeabilidad vascular, induce la adhesión leucocitaria y estimula la síntesis de derivados del ácido araquidónico. Estos derivados incluyen las prostaglandinas y los leucotrienos. Es, por otra parte, un potente factor quimiotáctico y activador de neutrófilos. El ácido araquidónico es un ácido graso derivado del ácido linoleico que se encuentra en la membrana celular y bajo estimulación puede ser liberado al exterior de la célula por una fosfolipasa. (53) (54)

El óxido nítrico se produce por las células endoteliales, macrófagos y neuronas del cerebro. Actúa de forma paracrina (acción corta y local) sobre las células diana y provocan la relajación del músculo liso (vasodilatación). La vida media in vivo del NO es muy corta, por lo que sólo actúa sobre las células muy próximas al lugar de producción. El NO se sintetiza a partir de L-arginina por la enzima NO-sintasa (NOS). (53) (54)

2. Mediadores plasmáticos de la inflamación.

El factor XII de la coagulación (Factor Hageman) se activa por superficies extrañas cargadas negativamente, tales como la membrana basal, enzimas proteolíticos o lipopolisacáridos. Una vez activado, el factor XII puede activar el sistema de la coagulación, el de la fibrinólisis y el de las kininas-kalicroféna. Las kininas inducen vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y estimulan las terminaciones nerviosas del dolor. (53) (54)

1.5.3.4 Manifestaciones sistémicas de la inflamación

Las manifestaciones sistémicas se conocen de forma colectiva como respuesta de la fase aguda. Al llegar un agente que produzca una lesión hay un ajuste rápido en la composición de las proteínas plasmáticas y la concentración de algunas aumenta, mientras que la de otras disminuye. (53) (54)

Una de las que aumenta es la proteína C reactiva (PCR), que funciona como opsonina de bacterias, la alfa-2-macroglobulina y otras antiproteinasas, el fibrinógeno del sistema de la coagulación y el amiloide sérico A, cuya función se desconoce. La albúmina y la transferrina disminuyen. La mayoría de estos cambios se producen por alteraciones en la síntesis de estas proteínas por los hepatocitos. La inflamación produce fiebre a través de pirógenos externos (endotoxina generalmente) que estimulan la producción de pirógenos endógenos como la IL-1 (Interleuquina) o el TNF (factor de necrosis tumoral). (53) (54)

Estas citocinas actúan sobre el hipotálamo anterior, donde se encuentra el termostato central del organismo e inducen la producción de PGE₂ que hace aumentar la temperatura corporal. Además, en la sangre periférica se puede observar una leucocitosis, es decir, un aumento del número de leucocitos (dos o tres veces). Este aumento se debe sobre todo a los neutrófilos, entre los que aparecen algunas formas inmaduras (cayados). (53) (54)

1.5.3.5 Reparación de la inflamación

En la inflamación se produce una destrucción de las células del parénquima y de las del estroma. El tejido lesionado se repara mediante tejido conectivo que va a producir la fibrosis y la escarificación. En este proceso intervienen los componentes siguientes: Formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis); Migración y proliferación de fibroblastos; Depósito de matriz extracelular; Maduración y organización del tejido fibroso (remodelación). El proceso de reparación empieza a las 24 horas tras la lesión. Los fibroblastos y las células del endotelio vascular comienzan a proliferar formando el tejido de granulación en el cual se forman nuevos vasos (angiogénesis). (53)

1.6 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Los medicamentos antiinflamatorios son aquellos con la propiedad de prevenir o disminuir la inflamación de los tejidos generalmente mediante el mecanismo de impedir o inhibir la biosíntesis de sus agentes mediadores, principalmente los denominados eicosanoides o derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI), tromboxanos (TXA₂) y leucotrienos (LTC)).(30). El cuerpo libera unas sustancias llamadas prostaglandinas que tenemos en todas las células del cuerpo. Esta liberación se puede deber a cualquier agresión al cuerpo. Cuando ocurre se liberan las prostaglandinas como forma defensiva y ocurre lo que llamamos inflamación o hinchazón de la zona afectada. Los antiinflamatorios lo que hace es inhibir o evitar la liberación de esas sustancias naturales las prostaglandinas. Hay dos grandes grupos de fármacos antiinflamatorios:

1. Antiinflamatorios no Esteroideos o AINES. (31)
2. Antiinflamatorios Esteroideos. (31)

1. Antiinflamatorios no esteroideos o AINES.

Las drogas AINES son un grupo de agentes de estructura química diferente que tiene como mecanismo de acción fundamental la disminución de la síntesis de prostaglandinas, mediada por su inhibición de la enzima ciclooxigenasa. (4) (31)

Por su mecanismo de acción se pueden agrupar en inhibidores no selectivos de la ciclooxigenasa (COX) e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), y por lo tanto la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. (4) (10) (31)

Ambas enzimas poseen características y funciones diferentes, por ello al ser bloqueadas, el resultado es distinto en cada una: El bloqueo de la COX-1 induce a efectos secundarios gastrointestinales, renales, plaquetarios (potencian la fibrinólisis); y el bloqueo de la COX-2, bloquea el mecanismos de la inflamación, reduciendo así la respuesta inflamatoria, dolorosa y febril. La COX-1 tiene efecto citoprotector, por ello al inhibirse perdemos esa protección, lo cual es perjudicial. Al inhibir la COX-2 sin inhibir la COX-1 se logra la permanencia de sus funciones protectoras. (4) (10) (31)

La vida media de los AINES es muy variable por lo que se los divide en tres grupos:

1. Vida media corta (<6h): aspirina, diclofenaco, etodolaco, fenoprofeno, ibuprofena, indometacina, ketoprofeno. (9)
2. Vida media intermedia (entre 6 y 10 horas): diflunisal, fenbufeno, carprofeno. (9)
3. Vida media corta (>10h): naproxeno, nabumetona, fenilbutazona, piroxicam y sulindac. (9)

Los AINES se absorben con rapidez en el estómago y en porción superior del intestino delgado, lo que origina una concentración plasmática máxima en 1 a 2 h. En general su unión a las proteínas plasmáticas es moderada y su distribución es amplia, se metabolizan principalmente en el hígado y el fármaco original y sus metabolitos se eliminan en la orina. (9) (31)

Según sea la dosis inicial a mayor dosis inicial se pueden generar mayores efectos secundarios. Los AINES generalmente producen irritación de la mucosa gástrica y son causa de úlcera péptica, manifestándose estos efectos por dolor estomacal y acidez. El daño tisular producido por dichos fármacos se debe a una acción irritante local y a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, ya que estos productos endógenos tienen la función de inhibir la secreción ácida gástrica en el estómago y promover la secreción de

moco citoprotector en el intestino. Asimismo la inhibición de las prostaglandinas puede ocasionar la inhibición de la agregación plaquetaria, inhibición de la motilidad uterina y prolongación de la gestión y del trabajo del parto. Además producir hemorragias, vértigo, cefaleas, fatiga, sueño, y veces ocasionan reacciones alérgicas de consideración. Los antiinflamatorios herbales también pueden causar serios efectos adversos como por ejemplo la árnica que puede producir cirrosis con la subsiguiente insuficiencia hepática. (9) (31)

2. Antiinflamatorios Esteroideos

El representante natural es el cortisol, hormona glucocorticoide. Estos antiinflamatorios inhiben la producción de moléculas proinflamatorias, derivadas del ácido araquidónico vía la inhibición de la fosfolipasa A2, inhibe la activación de moléculas de adhesión, citosinas y factor estimulante de colonias. (16) (24)

Particularmente los más usados son los esteroideos sintéticos como la dexametasona o la prednisona, entre otros. Su uso es limitado o restringido por sus efectos secundarios o adversos, sobre todo los administrados por vía oral o parenteral ya que pueden producir un síndrome de Cushing medicamentoso. Además de antiinflamatorios se usan como inmunodepresores y antialérgicos así como para terapia de sustitución hormonal. (31)

1.6.1 NAPROXENO SÓDICO

El naproxeno es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) de uso general, empleado en el tratamiento del dolor leve a moderado, la fiebre y la inflamación. Actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, pero su mecanismo exacto de actuación es desconocido. Es una sustancia blanca, inodora y cristalina con una masa molecular de 230,26 g/mol. Es liposoluble, prácticamente insoluble en agua con un pH inferior a 4 y totalmente soluble en agua con un pH superior a 6. (22) (27)

También está disponible como sal sódica, el naproxeno sódico, es del género del naptil propionico, es más fácil de absorber, pero se absorbe bien por vía rectal su vida media es

de 14 horas por esto se administra cada 12-24 horas, aproximadamente el 95% de la dosis se excreta por la orina. Se usa como antirreumático, en artritis, osteoartrosis, incluso en la patología llamada gota, también en dolores dentarios y migraña. Se administra en niños a partir del segundo año de edad y en dosis de 11mg/Kg de peso. Puede producir efectos indeseables como pirosis, cefalea, vértigo estreñimiento, náuseas y rash. (22) (27)

1.7 CARRAGENINA

La Carragenina es una goma que se extrae de las algas rojas de la familia *Rhodophyceae*, del género, *Chondrus crispus*. La recolección de esta alga se realiza durante la marea baja, entre la primavera y el otoño, y proviene de las costas de diversos países como Francia, Chile, Brasil, Argentina y Perú entre otros. (13) (14) (42)

Es una goma hidrófila natural tipo polisacárido, es de alta viscosidad, buena transparencia, baja cantidad total de colonia, sin olor de alga marina y buena retentividad acuosa. Es el polvo de color blanco o amarillo pálido, puede disolverse en el agua caliente más de 70°C, después se forma la disolución viscosa y transparente y se convierte en el gel de calor reversible al enfriarse. La carragenina se aplica ampliamente a los campos de alimentos, química, bioquímica y farmacia. Es la principal materia prima de comidas de gel, puede aplicarse a jalea, budín, caramelo blando, bebidas, productos lácteos, productos de carne, cerveza, condimentos y productos de harina, etc. (13) (14) (42)

Diversos estudios hallaron que este aditivo alimentario llamado carragenina, muy usado en la actualidad, causa cáncer en animales de laboratorio. Y por tal motivo, se debe reconsiderar su uso en alimentos para humanos. (13) (14) (42)

La carragenina representa una familia de polisacáridos polisulfatados, cuyos efectos fisiológicos incluyen la modulación de la función inmune inflamatoria y actividad antimetastásica. La inflamación producida por la carragenina se debe fundamentalmente a que esta sustancia estimula la producción de prostaglandinas las cuales derivan del metabolismo del ácido araquidónico y promueven los procesos inflamatorios-inmunológicos y angiogénicos. Para anular la inflamación producida por la carragenina

puede usarse la Indometacina, un antiinflamatorio no esteroide que bloquea la síntesis de prostaglandinas. Dado que las prostaglandinas producidas por las células tumorales inducen angiogénesis en tumores sólidos, el uso experimental de la Indometacina potenciaría la acción anticancerígena de la Carragenina. Es conocido que la Indometacina inhibe la respuesta vascular tumoral estimulada por linfocitos y macrófagos, así como también inhibe el crecimiento del tumor desmoide y del carcinoma hepatocelular con hipercalcemia. (13) (14) (42)

El proceso de extracción de la carragenina para su producción industrial se basa en dos de las propiedades de dicha alga su solubilidad en agua caliente y su insolubilidad en solventes orgánicos polares. (13) (14) (42)

Después de un proceso de lavado, triturado y filtrado, se obtiene un jarabe transparente que contiene carragenina en solución. Este líquido se somete a otro proceso que finaliza con una obtención de un fino polvo o granulado, insípido e inodoro, de color blanco a beige. (13) (14) (42)

1.8 RATAS (*Rattus norvegicus*)



FUENTE: RATAS. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Rattusnorvegicus00pdf>

FIGURA No. 10 *Rattus norvegicus*

1.8.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Superreino: Eucariota

Reino: Animalia

Subreino: Eumetazoa

Superphylum: Deuterostomia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Infraphylum: Gnathostomata

Superclase: Tetrapoda

Clase: Mammalia

Subclase: Theria

Infraclase: Placentalia

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Superfamilia: Muroidea

Familia: Muridae

Subfamilia: Murinae

Género: Rattus

Especie: norvegicus

Nombre binomial: *Rattus norvegicus*

Subespecies: R. n. albinicus - R. n. albus - R. n. norvegicus. (66)

1.8.2 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

La rata noruega presenta un pelaje áspero y grueso con prominentes orejas desnudas y cola prácticamente desnuda, que generalmente es más corta que el cuerpo y cabeza. De color blanco. Las hembras tienen 12 mamas. Posee cuatro incisivos, dos superiores y dos inferiores, carece de caninos y premolares anteriores lo que ocasiona que haya un diastema. (66)

Sus incisivos crecen durante toda su vida a partir de la base, que va sustituyendo la porción desgastada por la actividad de cortar y roer materiales duros. La parte exterior del diente es más dura y carece de nervio, salvo en la base. (66)

Fórmula dental: I (1/1), C (0,0), P (0/0), M (3/3). (66)

1.8.3 MEDIDAS

Longitud total: 80 a 480 mm.

Longitud de la cola: 187 mm en promedio 153 a 218 mm.

Longitud de la pata trasera: 37 a 44 mm promedio.

Peso: 200 a 500 g. (66)

1.8.4 CICLO REPRODUCTIVO

Puede ser a lo largo de todo el año, aunque se han reportado picos en primavera y otoño; las hembras son poliéstricas y pueden tener entre 1 y 12 camadas al año; presentan estro posparto. Las hembras son receptivas por un período de 20 horas, cada 4 a 6 días. (66)

Tiempo de gestación: De 21 a 26 días. (66)

1.8.5 TAMAÑO DE LA CAMADA

Desde 2 hasta 22 crías; promedio 8 a 9. Las crías nacen ciegas y desnudas, pero pueden ver y están completamente cubiertas de pelo a los 15 días, dejando el nido a los 22 días, aproximadamente. Madurez sexual: Entre 2 y 3 meses. (66)

1.8.6 HÁBITOS ALIMENTICIOS

Omnívora, comiendo desde materia vegetal, hasta animal y en particular semillas, granos, nueces, vegetales y frutas, aunque también comen insectos y otros invertebrados. Esta especie come todo lo que el ser humano y más, incluyendo papel, cera de abejas, jabón, etc. La comida comúnmente es llevada para almacenar a sus guaridas. En particular prefiere alimentarse de productos animales, tales como pájaros y huevos, y es excelente cazadora de peces. También se pueden alimentar de ratones, pollos y crías de cerdos y borregos, atacando en ocasiones animales mayores. La principal limitante es la presencia de agua. (66)

1.9 DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

La toxicidad aguda se refiere al desarrollo rápido de síntomas y efectos después de la aplicación de una dosis única relativamente alta o comúnmente se relaciona con los daños inmediatos generados por dosis únicas suficientemente grandes. La observación de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y analizados anatomopatológicamente. (70)

Para cumplir con el principio de las 3 “R” (reducción, refinamiento y reemplazo) se han aprobado tres métodos de reducción y refinamiento de la toxicidad aguda:

- Prueba de las dosis fijas: son dosis dadas a 5, 50, 300 y 2 000 mg/kg a 5 animales por sexo por grupo, si a una sola dosis se encuentra mortalidad se puede pasar a la otra, esta incorpora el término de toxicidad evidente, es una alternativa de la prueba clásica aguda. (70)
- Método de las clases, el cual determina el rango de dosis a la cual se espera letalidad (25,200 y 2 000 mg/kg) a 3 animales por sexo por grupo, donde se le atribuye el mismo peso a la toxicidad evidente. El método de las clases tóxicas agudas (CTA), tiene como objetivo fundamental determinar los posibles efectos adversos de una sustancia para estimar la relación cuantitativa entre la intensidad de la respuesta biológica medible y la concentración de la sustancia a administrar. A través de este método se reduce el número de animales de experimentación. (70)
- Método hacia arriba y abajo, donde se administra un solo animal, un solo sexo por dosis, sino hay muerte se pasa a la dosis siguiente, si dos dosis sucesivas son letales entonces 4 animales se prueban en una de esas dosis, utilizando 2 000 mg/kg de dosis máxima). (70)
- Prueba límite, se administra una dosis de 2 000 mg/kg de peso vivo a 5 animales por sexo de no existir una mortalidad conocida no se necesita seguir subiendo la dosis. (70)

Hay dos tipos generales de efectos tóxicos:

- **Los Efectos letales:** Los cuales producen la muerte de los individuos. (70)
- **Los efectos subletales:** Clasificados como otros efectos que no producen directamente la muerte, mediante los cuales se incluyó el término de toxicidad evidente. (70)

En el caso en que una sustancia a evaluar se administra por vía oral, para el caso de los roedores el volumen a administrar no debe exceder de 1 ml por 100 g de peso vivo para no acuosos, en el caso de los acuosos es de 2 ml por 100 g de peso vivo. Se recomienda que los animales sean observados por un período de 14 días lo cual no debe de ser tan rígido ya que puede estar dado por las reacciones tóxicas y el ritmo de recuperación. (1)

La dosis letal media siempre se debe considerar en conjunción con los efectos tóxicos observados clasificado como toxicidad evidente y los hallazgos patológicos. Los síntomas más comunes son pérdida de peso, náuseas, salivación, distensión abdominal, pérdida de equilibrio, dificultades respiratorias, convulsiones y postración. Se debe realizar la autopsia a todos los animales y se pesan las adrenales, cerebro, corazón, los riñones, el hígado, los pulmones, los ovarios con los oviductos, la glándula pituitaria, próstata, las glándulas salivales, el bazo, la tiroides con el paratiroides, el timo, los testículos y el útero. (21)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Productos Naturales de la ESPOCH.
- Laboratorio de Fitoquímica de la ESPOCH.
- Bioterio de la ESPOCH.
- Laboratorio Histopatológico de SOLCA- Riobamba.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Para la actividad antiinflamatoria se utilizaron un total de 15 ratas (*Rattuss novergicus*), del Bioterio de la Facultad de Ciencias ESPOCH.

2.2.1.1 Descripción

Peso corporal: 230-270g

Edad: 75-80 días de nacidas

Sexo: machos y hembras.

2.2.1.2 Condiciones

Agua y comida *ad libitum*

Ciclo de luz-oscuridad de 12/12h

Temperatura: 22°C+/-2

Humedad relativa entre 30-70%

Cama con viruta con cambio cada 48 h

2.2.2 MATERIA PRIMA

Como materia prima se utilizó los tallos frescos de Carrasquilla (*Berberis hallii*). La materia prima fue coleccionada en el mes de Junio del 2012 en la provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba, Parroquia Punin, para proceder a su respectivo análisis del vegetal.

2.2.3 EQUIPOS

1. Balanza analítica (BOECO)
2. Desecador
3. Estufa (MEMMERT)
4. Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
5. Espectrofotómetro
6. Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
7. pH-metro (HANNA INSTRUMENT)
8. Refractómetro
9. Bomba de vacío
10. Cabina extractora de gases (Memmr)
11. Cámara fotográfica (Sony)
12. Computadora HP Mini
13. Refrigeradora
14. Balanza técnica (Sarorius Universal)

2.2.4 MATERIALES DE LABORATORIO

1. Vasos de precipitación de 100 y 250mL
2. Trípode
3. Termómetro
4. Embudo simple
5. Papel filtro
6. Reverbero Electronico
7. Varilla de agitación
8. Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10mL
9. Cápsulas de porcelanas
10. Matraces
11. Probetas de 25 y 50mL
12. Embudo de separación de 250mL
13. Balones aforados de 10mL
14. Papel aluminio
15. Equipo de destilación
16. Refrigerante
17. Mangueras para refrigerante
18. Algodón
19. Balones esmerilados de 500mL
20. Pipetas de 5 y 10mL
21. Piceta
22. Jeringuilla de 1, 3 y 5mL (NIPRO)
23. Cánula
24. Cinta métrica
25. Frasco ámbar
26. Pera de succión
27. Fundas plásticas (negras y rojas)
28. Soporte Universales
29. Pinzas Universales
30. Pinza para capsula

31. Mortero
32. Guantes estériles
33. Mascarilla
34. Franela
35. Bisturí
36. Equipo de disección

2.2.5 REACTIVOS

1. Naproxeno sódico de 500 mg
2. Carragenina 0,5%
3. Agua destilada
4. Alcohol potable
5. Alcohol antiséptico
6. Gel antiséptico
7. Cloroformo
8. Ácido clorhídrico
9. Amonio
10. Butanol
11. Etanol al 100%
12. Formol buferado

2.3 FACTORES DE ESTUDIO

Los factores de estudio de esta investigación son:

- Evaluación in vivo de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del tallo de Carrasquilla (*Berberis halliii*).
- Provocar con carragenina el edema plantar en un lote de 15 rata de 230-270g de peso y analizar la actividad que posee frente a los alcaloides presentes en el extracto etanólico de *Berberis halliii*.

- Evaluación del diámetro y volumen de la pata de la rata relacionado con la concentración del vegetal utilizado.

2.4 TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.4.1 RECOLECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

La raíz de Carrasquilla (*Berberis hallii*) fue recolectada en la provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba, Parroquia Punin, el día 08 de Junio del 2012 con el criterio que deben ser tallos de corteza color ceniza y de color café-amarillento que se halle en perfectas condiciones y de tamaño considerable.

2.4.2 COMPROBACIÓN TAXONÓMICA E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

La comprobación e identificación taxonómica de los tallos recolectados de carrasquilla fueron realizadas por la Dra. Cumandá Játiva docente de la ESPOCH de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia quien certificó el ejemplar.

2.4.3 PROCESAMIENTO DE MATERIA PRIMA: MUESTREO, LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

- Se tomó una muestra representativa del total de los tallos de Carrasquilla, para el análisis. El contenido de sustancia depende de factores como la edad, tipo y posición del tallo que se muestrea, la disponibilidad de nutrientes del suelo y el estado fitosanitario.
- Los tallos de Carrasquilla fueron sometidos a una limpieza, eliminando impurezas y cuerpos extraños, sacudiendo.
- Posteriormente se lavó con agua y cepillo, sumergiéndolas en un recipiente con agua.
- Dejar secarlas sobre un recipiente limpio exponiéndolas al sol por una hora.
- En seguida descartar de los tallos las hojas, flores, frutos, espinos y su corteza.
- Se trocea los tallos en un recipiente limpio hasta obtener pequeñas partículas.
- Se almacenó la droga evitando contacto con luz y humedad en bolsas de papel si es posible estéril o de plástico.

2.4.4 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

En esta investigación el método utilizado para realizar el extracto fue por maceración.

Método por maceración:

1. En un recipiente de vidrio con su respectiva tapa, se transfiere la droga cruda triturada y pesada, se humedece directamente con el etanol a 96%, procurando que no quede líquido residual, (generalmente se emplea por cada gramo de droga, 2mL de alcohol para la humectación). Macerar por 3-5 días.
2. A los 3-5 días se transfiere a un vaso de precipitación de 1000mL de todo el material líquido obtenido, en un proceso de decantación, vaciando todo el contenido líquido.
3. Filtrar el extracto, para eliminar las impurezas.
4. El filtrado se coloca en un balón esmerilado (previamente pesado), para iniciar el proceso de concentración en el rotavapor.
5. Recoger el extracto etanólico concentrado y poner en un recipiente de vidrio etiquetado. Si es necesario se refrigera a 4°C y se mantiene fuera del alcance de la luz y humedad.

2.5 MÉTODOS GENERALES PARA EL ANÁLISIS DEL EXTRACTO

2.5.1 DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

1. Determinación de Olor

Se toma una tira de papel filtro de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina el olor característico del producto.

2. Determinación de Color

En un tubo de ensayo limpio y seco, se llena hasta los 2cm con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

3. Determinación del sabor

Colocar una pequeña cantidad de muestra en el borde de la palma de la mano o en el dedo índice e inmediatamente al contacto con la punta de la lengua se realiza la identificación de su sabor.

2.5.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Procedimiento:

Primeramente pésese el picnómetro vacío y seco a 25°C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 min y ajústesele el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25°C, después de limpiar el picnómetro.

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

FÓRMULA N° 1.

Donde:

D = densidad relativa.

M1 = peso del picnómetro con la muestra (g).

M2 = peso del picnómetro con el agua (g).

M = peso del picnómetro vacío (g).

2.5.3 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\text{Seni}}{\text{Senr}}$$

FÓRMULA N° 2.

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente.

Procedimiento:

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada. Utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionado la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

Expresión de los resultados:

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002.

Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$Nd_{25} = Ndt + 0.00044 (t-25)$$

FÓRMULA N° 3.

Donde:

Nd_{25} = índice de refracción a 25 °C.

Ndt = valor leído en la escala del aparato a la temperatura.

T = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).

0.00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas.

2.5.4 DETERMINACIÓN DEL pH DE EXTRACTOS

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$pH = - \log a [H^+]$$

FÓRMULA N° 4.

$[H^+]$ = actividad de los iones hidrógeno.

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en

función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Procedimiento:

Ajuste el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación del valor del pH de la muestra. Se introduce directamente los detectores del pH-metro en la muestra y se realiza la lectura.

2.6 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA

2.6.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca.

Procedimiento:

De la especie vegetal se pesa 2 g con desviación permisible de 0,5 mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105⁰C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105⁰C durante 3 horas. La cápsula se coloca en el desecador, donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%H = \frac{M2 - M1}{M} \times 100$$

FÓRMULA N° 5.

Donde:

%H = Porcentaje de Humedad

M = masa de la muestra de ensayo (g).

M1 = masa del pesa filtro con la muestra desecada (g)

M2 = masa del pesa filtro con la muestra de ensayo (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

2.7 EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES

La extracción abarca el extracto total, que contiene además de la totalidad de los alcaloides y flavonoides presentes en la planta, impurezas entre las cuales se citan grasas, ceras vegetales, resinas, colorantes, taninos, y sales de ácidos orgánicos como el ácido oxálico.

Para la purificación del extracto total es necesario el uso de solventes inmiscibles y variación de pH lo que conlleva a la separación de la fracción de alcaloides totales (también llamados base libre) y flavonoides totales.

El aislamiento del alcaloide de su base libre generalmente ocurre por extracciones sucesivas.

La extracción de la droga vegetal se realiza con solventes orgánicos o con soluciones acuosas de ácidos o de sales de reacción acida de bases libres. El segundo caso indica que son extraídos en forma de sus sales.

La extracción y purificación suele hacerse en base a la basicidad. El método más común de extracción y purificación de alcaloides es la utilización de un sistema de ácidos o bases en el cual los alcaloides son extraídos con soluciones, para luego purificarse alcalinizando la solución y extrayendo el alcaloides con solvente orgánico.

En este proceso, sustancias solubles en agua son separadas de los alcaloides. De esta manera puede extraerse todos los alcaloides relacionados estructuralmente presentes en el vegetal.

Procedimiento: En un embudo de separación agregar 20 mL (51.24 g) del extracto etanólico y basificar con Amoníaco NH_3 hasta pH 8.5 posteriormente se adiciona 100 mL de Cloroformo (HCCl_3) por cinco veces obteniéndose dos fracciones:

- Fracción 1: solución clorofórmica básica y alcaloides.
- Fracción 2: solución EtOH y flavonoides.

Posteriormente a la fracción 1 se recoge en un balón esmerilado de 1000 mL tarado, se concentra asta sequedad en el rotavapor y posteriormente con aire comprimido para obtener el residuo seco de alcaloides totales (0.4565g).

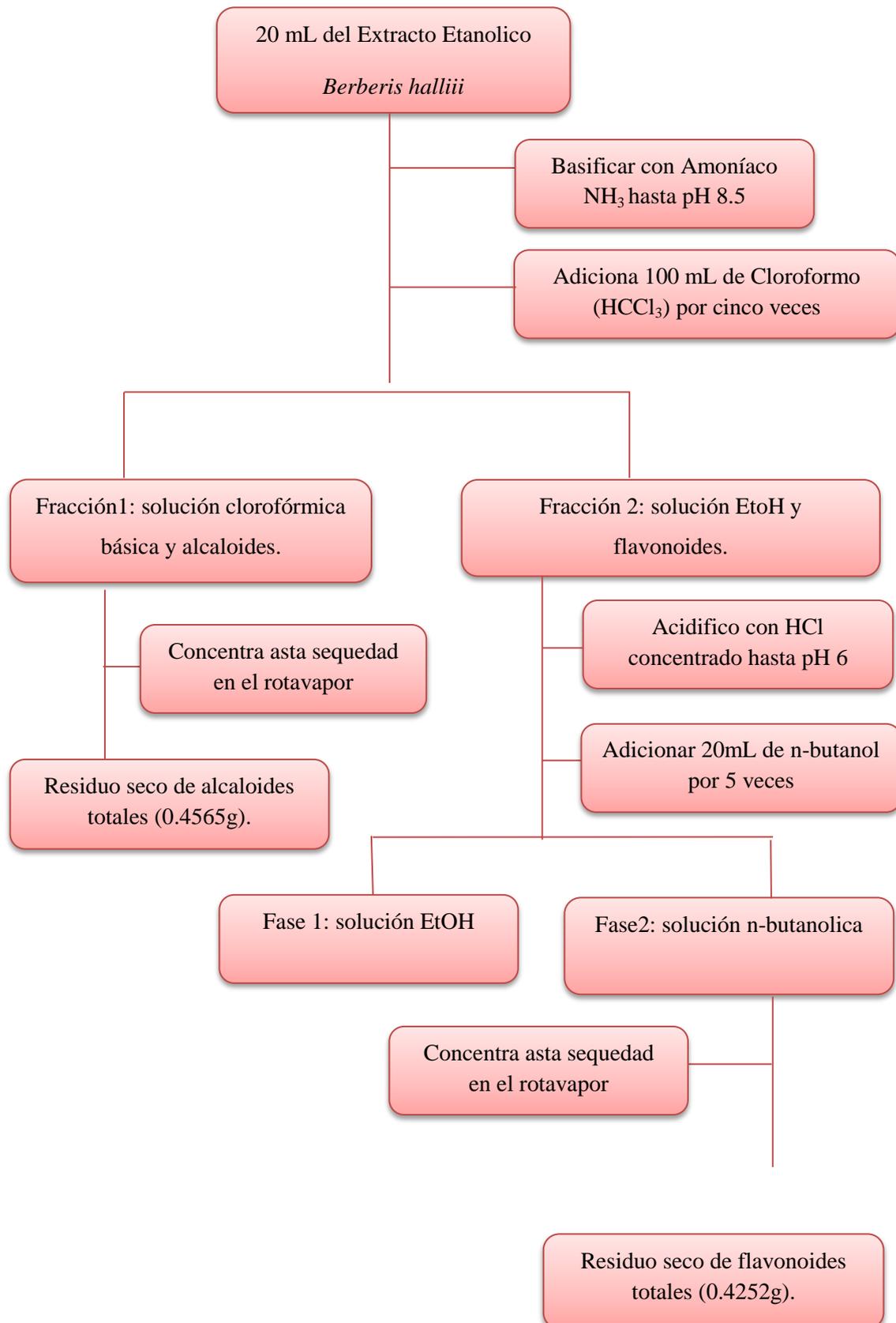
A la fracción 2 se acidifico con ácido clorhídrico concentrado (HCl) hasta pH 6, a continuación se adiciona 20mL de n-butanol por 5 veces resultando dos fases:

- Fase 1: solución n-butanolica
- Fase 2: solución EtOH

En la solución n-butanolica se encuentran los flavonoides más polares. Esta fase se recoge en un balón esmerilado de 500 mL pesado, para concentra asta sequedad por destilación directa o en el rotavapor y así obtener el residuo seco de flavonoides totales (0.4252g).

El procedimiento descrito se explica en el esquema siguiente.

FIGURA No 11. FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO DE TALLOS DE *Berberis hallii* Y OBTENCIÓN DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES.

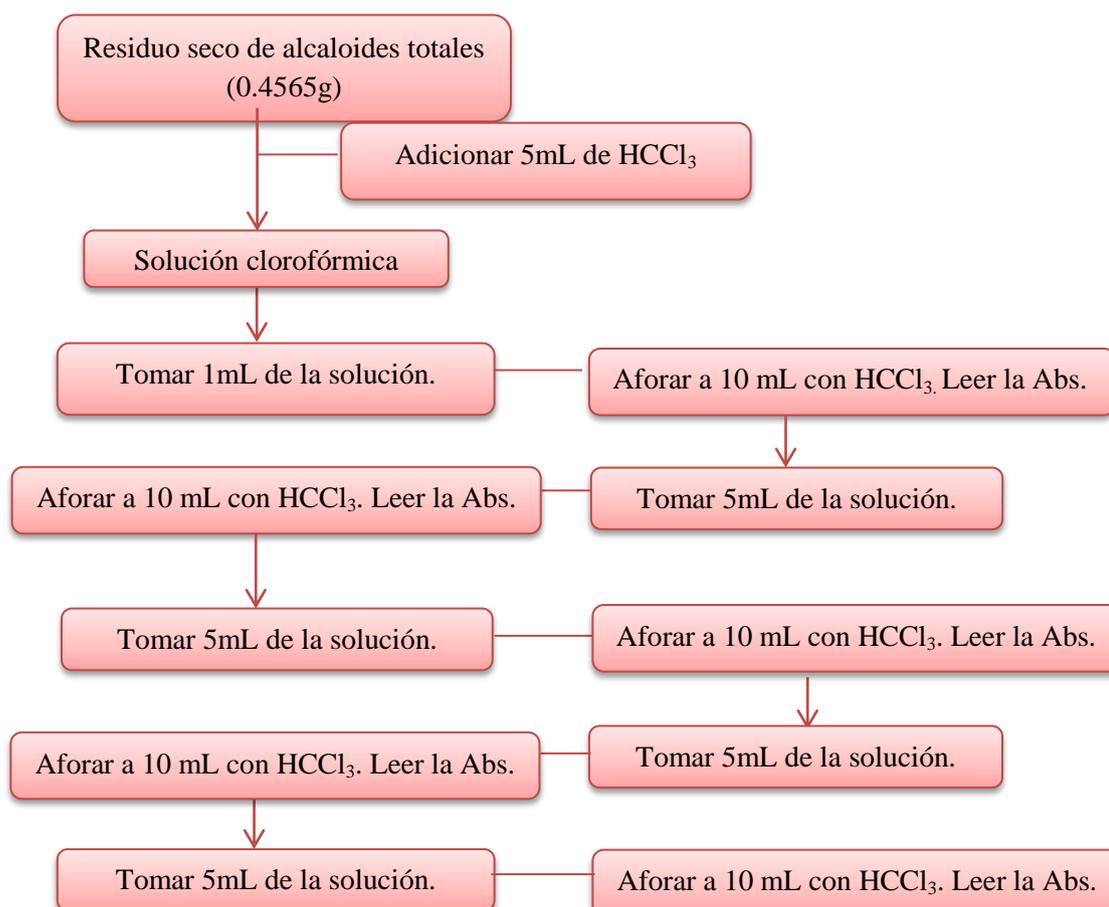


2.8 LECTURA EN EL ESPECTROFOTÓMETRO

2.8.1 LECTURA EN EL ESPECTROFOTÓMETRO PARA LOS ALCALOIDES

- Al residuo seco de alcaloides totales (0.4565g) se adiciono con una pipeta volumétrica, 5 mL de cloroformo.
- Posteriormente se preparó diluciones 5:10, usando cloroformo como sistema de solvente.
- Se llevó las diluciones a lectura en el espectrofotómetro para determinar su absorbancia, a una longitud de onda (λ) 245 nm.

FIGURA No. 12 DILUCIONES 5:10 PARA LEER SU ABSORBANCIA.



CUADRO N^o 1. LECTURA EN EL ESPECTROFOTÓMETRO PARA LOS ALCALOIDES A UNA LONGITUD DE ONDA (λ) 245 nm.

Sustancia	Solvente	Absorbancia $\lambda= 245 \text{ nm}$	Concentración (mg/mL)
Residuo seco de alcaloides totales (0.4565g)	Cloroformo (HCCl ₃)	2.273	9.13
		1.883	4.565
		1.062	2.282
		0.524	1.141
		0.268	0.571

2.8.2 LECTURA EN EL ESPECTROFOTÓMETRO PARA LOS FLAVONOIDES

- Al residuo seco de flavonoides totales (0.4252g) se adiciono con una pipeta volumétrica, 5 mL de etanol al 96%.
- Posteriormente se preparó diluciones 1:10 usando etanol al 96% como sistema de solvente.
- Se llevó las diluciones a lectura en el espectrofotómetro para determinar su absorbancia, a una longitud de onda (λ) 205 nm.

CUADRO N^o 2. LECTURA EN EL ESPECTROFOTÓMETRO PARA FLAVONOIDES A UNA LONGITUD DE ONDA (λ) 205 nm.

Sustancia	Solvente	Absorbancia $\lambda= 205 \text{ nm}$	Concentración (mg/mL)
Residuo seco de flavonoides totales (0.4252g)	Etanol al 100%	3.374	8,504
		0.888	0,8504
		0.729	0,08504
		0.600	0,008504
		0.595	0,0008504

2.9 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*).

2.9.1 PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATAS (*Rattus norvegicus*) INDUCIDO POR CARRAGENINA

El método de edema plantar inducido por Carragenina consiste en la administración subcutánea de una solución de Carragenina a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar se puede administrar vía intraperitoneal, oral, etc. (12) (65)

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. De una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase está mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2. (12) (65)

La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas ocurre durante toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente. (65)

Es muy importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. Se prefiere la Carragenina ante otros irritantes porque el edema producido está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad antiinflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad anti-inflamatoria en clínica. (65)

Procedimiento:

FASE 1: ACLIMATACIÓN

- Aislamiento de las ratas (machos y hembras) una semana previo a la experimentación.
- Peso de las ratas: 230-270g.
- Edad: Dos meses

Condiciones ambientales:

- Temperatura: 18°C
- Comida: 3g de pellets/100g peso de la rata; agua *ad libitum*

FASE 2: DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS

- Grupo negativo: 3 ratas
- Grupo positivo: 3 ratas
- Grupos experimentales: 9 ratas, divididas en grupos de 3 para cada dosis del extracto de Carrasquilla.(3×3=9)
- Medir de cada grupo los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas con una cinta métrica.
- El grupo control recibió solamente el vehículo (agua *ad libitum*).

FASE 3: INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR

Control (-):

Inducción con carragenina 0,5%

- Dosis: A partir del octavo día de experimentación administramos 0,1 mL de una disolución acuosa de carragenina 0,5% por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar derecha de la rata, posteriormente se mide el volumen de la pata desde el inicio hasta el final de la investigación.

- Intervalos: Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 0, 1, 2, 4, 6, 8,10 y 12 horas después de la inyección de carragenina.

La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación.

FASE 4: TRATAMIENTO

Control (+):

- Dosis: Administrar 1 mL de solución de Naproxeno sódico de 500mg a una concentración 16mg/kg por vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. El vehículo utilizado fue agua destilada. Media hora después administramos 0,1 mL de carragenina 0,5%. Posteriormente se mide el volumen de la pata desde el inicio hasta el final de la investigación.
- Intervalos: Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 0, 1, 2, 4, 6, 8,10 y 12 horas.

FASE 5: GRUPOS EXPERIMENTALES

Este procedimiento se aplicará de forma simultánea para los cuatro grupos experimentales.

- Dosis: Administrar 1mL, 0,6mL y 0,4mL, de extracto del Carrasquilla a concentraciones de 114.47mg/kg, 68.68mg/kg y 45,78 mg/kg de peso. Por vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. El vehículo utilizado fue agua destilada. Media hora después administramos 0,1 mL de carragenina 0,5%. Medir el volumen de la pata desde el inicio hasta el final de la investigación.
- Intervalos: Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 0, 1, 2, 4, 6, 8,10 y 12 horas.

Nota: Las ratas se encontraban en un estado de salud óptimo y en ayuno de 12 horas.

Se calculó el volumen de inflamación producido, con la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen} = \pi/4d^2h$$

FÓRMULA N° 6.

Donde:

d = diámetro de la pata

h = largo de la pata

Los resultados se determinaron como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inflamación} = \frac{V_{\text{control positivo}} - V_{\text{normal}}}{V_{\text{normal}}} \times 100$$

FÓRMULA N° 7.

Donde:

V control positivo = volumen de la pata inflamada a un tiempo x

V normal = volumen normal (antes de la aplicación de Carragenina). (69)

El porcentaje de Inhibición de la reacción inflamatoria de la Carragenina, se calcula en la fase aguda a las 1, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas de la inyección de la misma.

$$\% \text{ Inhibición fase aguda} = \frac{V_{\text{control problema}} - V_{\text{control positivo}}}{V_{\text{control problema}}} \times 100$$

FÓRMULA N° 8.

Donde:

V control problema = volumen de la pata inflamada sin antiinflamatorio

V control positivo = volumen de la pata inflamada con antiinflamatorio

V normal = volumen normal (antes de la aplicación de Carragenina). (69)

2.9.2 ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

En el cuadro siguiente se muestra el esquema de ensayo utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de Carrasquilla (*Berberis hallii*). Se observa cada 2 horas el volumen de la inflamación en la región plantar de la rata.

CUADRO No 3. GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*), EMPLEANDO EL MODELO DEL EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA.

TRATAMIENTOS	REPETICIONES		
Control problema	R1	R2	R3
Control positivo	R1	R2	R3
Grupo A	R1	R2	R3
Grupo B	R1	R2	R3
Grupo C	R1	R2	R3

Donde:

Control problema: administración de 1 mL Carragenina 0,5%

Control positivo: administración de Naproxeno sódico 500mg (16 mg/Kg)

Grupo A: Dosis equivalente de la planta contenida en el extracto: 114,47 mg/Kg

Grupo B: Dosis equivalente de la planta contenida en el extracto: 68,68 mg/Kg

Grupo C: Dosis equivalente de la planta contenida en el extracto: 45,78 mg/Kg

Para llevar a cabo esta investigación se empleó un lote de 15 ratas (*Rattus norvegicus*). Aplicando el principio de las 3R (reducción, refinamiento y reemplazo), se utilizan 15 animales de experimentación para la primera ronda de administración y se realizarán 3

repeticiones para verificar la reproducibilidad y se valide la investigación. En total se necesitan como máximo 45 animales de experimentación.

Los animales deben estar acondicionados en cajas plásticas de polipropileno y mantenidos en condiciones ambientales controladas (temperatura $20,6 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$, humedad relativa $59,8 \pm 5,2\%$ y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), por un período de adaptación de 7 días. Se alimentaron con la fórmula peletizada y agua *ad libitum*. La identificación de los animales se realizó mediante marcas con marcador permanente en la cola de cada animal.

2.10 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*).

La toxicidad aguda cuantifica los efectos adversos que ocurre dentro de un breve lapso con posterioridad a la administración de una dosis única o múltiple.

La prueba más común de toxicidad aguda involucra la determinación de la dosis letal media (DL_{50}) del compuesto en estudio. La dosis letal media está definida como una expresión estadísticamente derivada de una sola dosis de una sustancia que prevesiblemente matara al 50% de los animales.

2.10.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Aleatoriamente se conformaron tres grupos experimentales, dos grupos tratados y uno como blanco, cada grupo conformado de cuatro ratas, de dos meses de edad, de $198,7 \pm 12$ g de peso, dejándolos en ayunas por 24 horas con agua *ad libitum* y mantenidos a temperatura constante entre 18 y 20°C . Los cuales están aptos para realizar el estudio de toxicidad aguda por vía oral.

El primer grupo recibió la dosis más alta usada en el experimento, 1 mL de extracto de Carrasquilla a una concentración de 114,47 mg/Kg de peso. El segundo grupo recibió 17,47 mL de extracto de carrasquilla a una concentración de 2000 mg/Kg de peso, por

vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. La primera dosis debe ser administrada todos los días y la segunda dosis una sola vez y posteriormente pasar a la etapa de observación. El grupo blanco recibió el mismo volumen de agua destilada. (26)

Una dosis letal alta significa la toxicidad aguda baja, y una dosis letal baja significa la toxicidad aguda alta. (26)

Los animales fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos, con especial atención durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, recogiendo signos y síntomas de toxicidad. (39) (71)

Las observaciones estuvieron dirigidas a la determinación de: muerte y tiempo de ocurrencia de la misma, signos y síntomas de toxicidad incluyendo su comienzo y duración, además de cambios en la piel, membranas de mucosas y ojos, en el sistema respiratorio, en el circulatorio, en el nervioso central y en el autónomo, en la actividad somatomotora y en la conducta. Se prestó especial atención a la potencial ocurrencia de temblor, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, somnolencia y coma. Los signos clínicos más frecuentes se exponen en la siguiente tabla: (39) (71)

TABLA N^o 3. EVALUACIÓN DE SIGNOS DE TOXICIDAD.

SIGNOS EVALUADOS	
Actividad general	Convulsiones
Grito	Lagrimación
Irritabilidad	Salivación
Respuesta al toque	Micción
Huida	Hipotermia
Patas posteriores	Alopecia
Enderezamiento	Muerte.(71)

Los valores son atribuidos arbitrariamente a partir de aquellos que son considerados normales. Así los parámetros, cuyos valores iniciales reciben una anotación de 4 puntos

pueden disminuir hasta 0, en el caso de desaparición de una respuesta analizada, o aumentar hasta 8, en el caso de un aumento de la respuesta. Para aquellas respuestas con una anotación normal 0 solo podrá haber un aumento del efecto analizado, que puede tener máximo 4.

Se controló el peso vivo de los animales en los días 1, 7 y 14 del experimento como uno de los parámetros demostrativos de toxicidad. (71)

2.10.2 EXAMEN ANATOMO-PATOLÓGICO

Al culminar el ensayo las ratas fueron sacrificadas por el método de eutanasia con éter etílico. Se realizó la necropsia y se procedió a la extracción del estómago, el hígado, y los riñones, a los cual se le observaron sus características macroscópicas como el color, aspecto, consistencia, forma, peso y medidas tanto de largo, ancho y profundidad.

Posteriormente se colocaron los estómagos, los hígados, y los riñones en envases que contenían formol buferado para su correspondiente examen histopatológico.

2.10.3 EXAMEN HISTOPATOLÓGICO

Se realizaron los cortes histológicos de cada estómago, hígado, y de los riñones, luego se prepararon las placas y por último se realizó la observación microscópica para determinar el daño ocasionado por las dosis.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta sección se mostrará en cuadros, los datos experimentales y los resultados obtenidos al aplicar todo lo descrito en los capítulos anteriores.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA FRESCA DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*).

Para la utilización de la droga vegetal en la investigación del efecto antiinflamatorio, se recomienda la realización del control de calidad del tallo sin la corteza para que no existan interferencias debido a la clorofila. La Carrasquilla (*Berberis hallii*) fue adquirida en la Parroquia de Punin en el mes de Junio del 2012.

3.1.1 COMPROBACIÓN TAXONOMICA E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

La comprobación taxonómica e identificación botánica fue realizada por la Dra. Cumandá Játiva, docente de la ESPOCH de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica.

Se confirmó que la Carrasquilla utilizada es *Berberis hallii* ya que pertenece a la Clase Magnoliopsida; Familia Berberidaceae; Genero *Berberis*; y Especie *hallii*.

3.1.2 IDENTIFICACIÓN MACROSCÓPICO

El vegetal fue identificado de acuerdo a las siguientes características:

- Arbusto denso armado de espinos simples o triples.

- Tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 3 m de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza.
- Las hojas son ovales, alternas, con peciolo corto de unos 3 cm de longitud. Presentan una progresión desde hojas hasta espinas, de forma que las de más de un año se van transformando en espinas.
- Las flores aparecen entre abril y junio, son pequeñas y amarillas, agrupadas en pequeños racimos colgantes.
- Los frutos son bayas de aspecto alargado, de forma elipsoidal de 1,5 cm de longitud de color negro azulado, ácido pero de sabor agradable.
- Son arbustos o pequeños árboles, espinosos, leño amarillo.

3.2 ANÁLISIS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*).

El análisis de control de calidad se realizó en el extracto de Carrasquilla (*Berberis hallii*) obtenido por maceración de la droga fresca con alcohol potable (96%).

3.2.1 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

CUADRO No 4. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL EXTRACTO CONCENTRADO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.

Planta fresca Carrasquilla (g).	Extracto EtOH concentrado (g).	Porcentaje de rendimiento. $\% = \frac{\text{Rendimiento Real}}{\text{Rendimiento Teorico}} \times 100$
248.50	20.72	8.34%

El porcentaje de rendimiento del extracto concentrado de los tallos de Carrasquilla (*Berberis hallii*) es de 8.34% lo que indica una disminución notable debido a la recuperación del solvente. El porcentaje de rendimiento es menor al 50%, esto se debe a la relación entre los tallos de Carrasquilla con el EtOH al 96% que aumenta de acuerdo al

tiempo de permanencia, también es por el tiempo y la presión a la cual es sometida el extracto para ser concentrado.

3.2.2 CARACTERÍSTICAS DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Berberis Halliii*

CUADRO No 5. CARACTERÍSTICAS DEL EXTRACTO ETANOLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis halliii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.

PARÁMETROS	RESULTADOS	MÉTODO
Aspecto	Líquido	Vista
Color	Amarillo-Café	Vista
Olor	Amaderado	Olfato
Sabor	Picante y ligeramente amargo	Gusto
Densidad	1.021 g/mL	Picnómetro
Índice de Refracción	1.344	Refractómetro
pH	4.68	pH-metro

Entre los resultados que se observan en el cuadro 5 se encuentran las características organolépticas del extracto etanólico de Carrasquilla (*Berberis halliii*), siendo líquido en su aspecto, de color amarillo-café, sabor picante ligeramente amargo y de olor amaderado. Además de estos parámetros nos indica que el extracto etanólico de Carrasquilla es más denso que el agua por ser su valor mayor a 1. Este valor es indicativo de que en el extracto existen sustancias en disolución. (55)

El índice de refracción resulto ser 1.344 este valor nos indica la presencia de sustancias disueltas, pues al compararlo con el del agua (1.333), podemos observar que es mayor.

El pH expresa la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] presentes en determinadas sustancias. En el extracto etanólico de *Berberis halliii* el pH es de 4.68 lo que representa un pH ligeramente ácido. Esto indica, que los compuestos químicos presentes con características ácidas débiles (fenoles y taninos, flavonoides, ácidos grasos, entre otros), no se modifican; por lo que se conserva su actividad. (56)

3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA Y CONTENIDO DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*).

CUADRO No 6. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA Y CONTENIDO DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.

PARÁMETROS	RESULTADOS	MÉTODO
Muestra fresca	5 g	
Aspecto	Partículas sólidas y diminutas	Troceado
% de Humedad	52,91 %	Método gravimétrico
Alcaloides totales	0,4565 g	Separados por basificación y extracción con cloroformo con posterior concentración hasta sequedad en el rotavapor.
Flavonoides totales	0,4252 g	Separados por acidificación y extracción con n- butanol con posterior concentración hasta sequedad en el rotavapor.
Extracto total	0.8817 g	
Alcaloides totales	51 %	Porcentaje de rendimiento
Flavonoides totales	48%	$\%R = \frac{\text{Rendimiento Real}}{\text{Rendimiento teorico}} \times 100$

En el cuadro 6 se puede apreciar el porcentaje de humedad de la planta fresca Carrasquilla (*Berberis hallii*) con un valor de 52.91% lo que reflejan la cantidad de agua libre que contiene el material vegetal que es alta. Las plantas recién recolectadas contienen una cantidad de agua importante. En droga seca contienen un porcentaje de humedad de 12% valor que se encuentra dentro de los límites 8-14%, similar en el trabajo realizado por CAROLINA SILVA 2010. (25)

También se aprecia la cantidad de alcaloides totales con un valor de 0.4565 g, separados por basificación y extracción con cloroformo, los flavonoides resulto ser 0,4252 g los

mismos que fueron separados con n-butanol del extracto etanólico de Carrasquilla (*Berberis hallii*) a la vez estos metabolitos secundarios se encuentran con un porcentaje de 51 % y 48% respectivamente. Estos valores nos indican que existe más cantidad de alcaloides que flavonoides, criterio similar en el trabajo de CAROLINA SILVA, 2010.

3.5 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES.

CUADRO N^o 7. LECTURAS EN EL ESPECTROFOTÓMETRO DE LOS ALCALOIDES DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.

Concentración (mg/mL)	Absorbancia $\lambda = 245 \text{ nm.}$
9,13	2,273
4,565	1,883
2,282	1,062
1,141	0,524
0,571	0,268

En el cuadro 7 se indica que el extracto etanólico de Carrasquilla (*Berberis hallii*) que contiene alcaloides, presenta valores de absorbancia obtenidos a partir de la medición en el espectrofotómetro UV-Visible a 245 nm, ya que a esta longitud de onda se muestran excelentes cromóforos para su cuantificación. (200 a 400nm). (15)

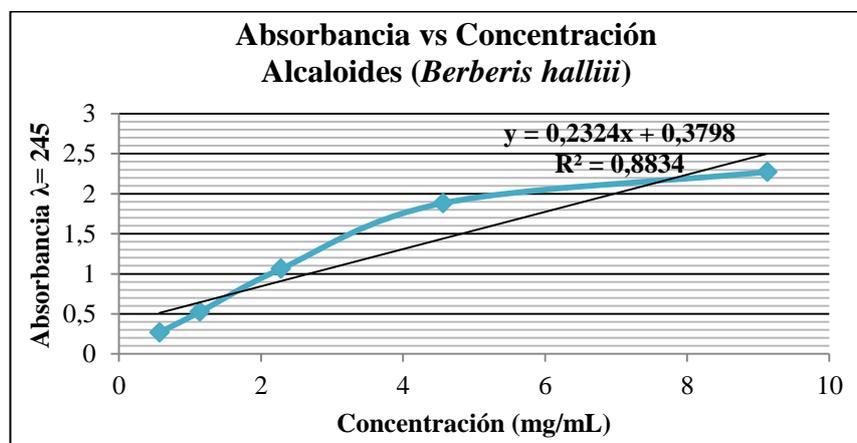


GRÁFICO No 1. CURVA DE REGRESIÓN AJUSTADA PARA LOS ALCALOIDES DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.

CUADRO N^o 8. LECTURAS EN EL ESPECTROFOTÓMETRO DE LOS FLAVONOIDES DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.

Concentración (mg/mL)	Absorbancia $\lambda= 205$ nm.
8,504	3,374
0,8504	0,888
0,08504	0,729
0,008504	0,6
0,0008504	0,595

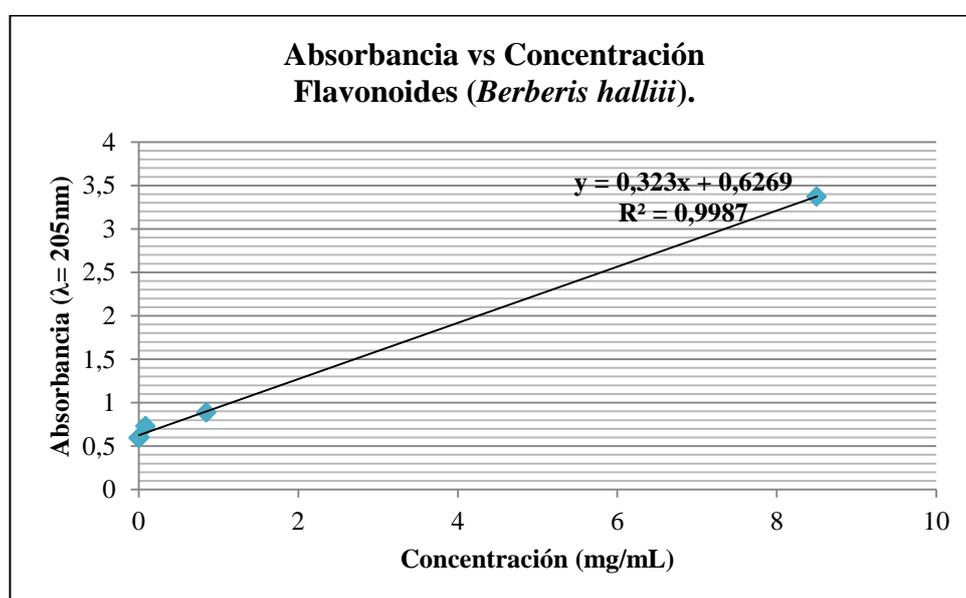


GRÁFICO No 2. CURVA DE REGRESIÓN AJUSTADA PARA LOS FLAVONOIDES DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012

3.6 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA.

Al extracto alcohólico de carrasquilla (*Berberis hallii*) se le evaporó el etanol hasta sequedad y se le reconstruyó con agua destilada para evitar gastritis de las ratas. Se les administró en dosis de 114.47(A), 68.68 (B) y 45.78 (C) (mg/kg), para comprobar la actividad antiinflamatoria en ratas (*Rattus norvegicus*) con edema plantar inducido con carragenina 0,5%.

El Naproxeno sódico 500mg fue administrado en dosis (16 mg/Kg), utilizada como droga control positivo para reducir la inflamación provocada por carragenina 0,5%. Mientras que el grupo control negativo recibió solo el vehículo agua destilada.

El volumen del edema plantar de la rata se evaluó al inicio de la investigación y al término de la misma para esto se toma en cuenta tanto el diámetro como el largo de la pata derecha, con el fin de conocer de qué manera actúa el extracto administrado.

Las mediciones se realizaron a las 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas después de la inyección de la carragenina, posteriormente se calcula el volumen de cada medición y se realiza un promedio de las tres replicas, los resultados se muestran en el siguiente :

CUADRO N^o 9. RESULTADOS DEL VOLUMEN DEL EDEMA PLANTAR DE LAS RATAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) Y NAPROXENO SODICO. BIOTERIO DE LAFACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DE 2012.

TIEMPO 0 HORAS				
GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	19,64	19,64	19,64	19,74
Control positivo Naproxeno sódico 16 mg/Kg	19,86	19,84	19,85	19,85
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	20,71	20,73	20,72	20,72
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	19,11	19,15	19,16	19,14
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	19,49	19,44	19,45	19,46

Donde:

Control problema: administración de 1 mL Carragenina 0,5%

Control positivo: administración de Naproxeno sódico 500mg (16 mg/Kg)

Grupo A: Dosis equivalente de la planta contenida en el extracto: 114,47 mg/Kg

Grupo B: Dosis equivalente de la planta contenida en el extracto: 68,68 mg/Kg

Grupo C: Dosis equivalente de la planta contenida en el extracto: 45,78 mg/Kg

En el tiempo 0 horas se administró el extracto, media hora después se inyectó la carragenina en el tiempo 1 y se continuó tomando las mediciones cada hora.

TIEMPO 1 HORAS				
GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	23,04	25,06	24,05	24,05
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	23,16	23,14	23,15	23,15
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	20,71	20,73	20,72	20,72
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	21,57	23,59	22,58	22,58
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	23	24,01	22,02	23,01
TIEMPO 2 HORAS				
GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	29,47	31,46	33,45	31,46
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	27,56	31,54	26,58	28,56
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	22,97	33,96	24,04	26,99
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	29,15	31,23	27,16	29,18
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	30,07	30,07	30,07	30,07

TIEMPO 4 HORAS

GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	48,83	49,95	50,83	49,87
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	22,97	25,95	31,96	26,96
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	33,03	31,12	23,15	29,1
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	28,64	27,49	38,58	31,57
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	35,33	37,28	30,23	34,28

TIEMPO 6 HORAS

GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	57,68	46,78	56,88	53,78
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	21,76	34,92	23,84	26,84
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	29,88	28,88	27,85	28,87
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	30,68	33,78	39,73	34,73
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	37,08	39,1	41,09	39,09

TIEMPO 8 HORAS

GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	57,68	46,78	56,88	53,78
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	24,63	29,71	25,79	26,71
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	30,81	30,85	24,77	28,81
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	37,55	36,56	35,42	36,51
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	43,91	42,79	41,85	42,85

TIEMPO 10 HORAS

GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	57,68	46,78	56,88	53,78
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	26,55	27,67	25,49	26,57
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	31,39	25,44	28,49	28,44
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	36,93	40,97	32,89	36,93
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	48,68	43,65	44,62	45,65

TIEMPO 12 HORAS

GRUPOS	R1 Volumen (cm³)	R2 Volumen (cm³)	R3 Volumen (cm³)	Promedio Volumen (cm³)
Control problema Carragenina 0,5%	57,68	46,78	56,88	53,78
Control positivo Naproxeno sódico (16 mg/Kg)	23,48	23,44	23,43	23,45
Grupo A Extracto (114,47 mg/Kg)	22,35	31,33	28,34	27,34
Grupo B Extracto (68,68 mg/Kg)	31,87	34,91	37,95	34,91
Grupo C Extracto (45,78 mg/Kg)	43,71	45,75	41,49	43,65

3.6.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos que se muestran a continuación se obtuvieron utilizando la fórmula de porcentaje de Inflamación, descrita anteriormente en la metodología. Para elaborar las gráficas se utilizó el programa Microsoft office Excel 2010. Se realizó graficas que corresponde a cada uno de los grupos tratados.

El análisis estadístico de los resultados se realizó comparando los promedios de cada uno de los grupos con sus respectivos grupos control utilizando la prueba de ANOVA y el

test de Tukey para determinar qué valores presentaban una diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto al grupo control.

En este trabajo también se anexo graficas que corresponden a la del grupo control negativo y de la aplicación de una dosis del extracto de mayor concentración para poder observar cómo se presenta el efecto antiinflamatorio.

CUADRO N^o 10. PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA. BIOTERIODE LAFACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DE 2012.

Tiempo (Horas)	Control problema Carragenina 0,5%	Control positivo Naproxeno sódico (16mg/kg)	Grupo A Extracto (114,47mg/kg)	Grupo B Extracto (68,68mg/kg)	Grupo C Extracto (45,78mg/kg)
1	22,45	16,62	0,00	17,97	18,24
2	59,37	43,88	33,25	52,46	54,52
4	153,97	35,82	40,44	64,94	76,16
6	174,54	35,22	39,33	81,43	100,88
8	174,54	34,56	39,04	92,94	120,20
10	174,54	33,85	37,26	90,75	134,58
12	174,54	18,14	31,95	82,39	124,31

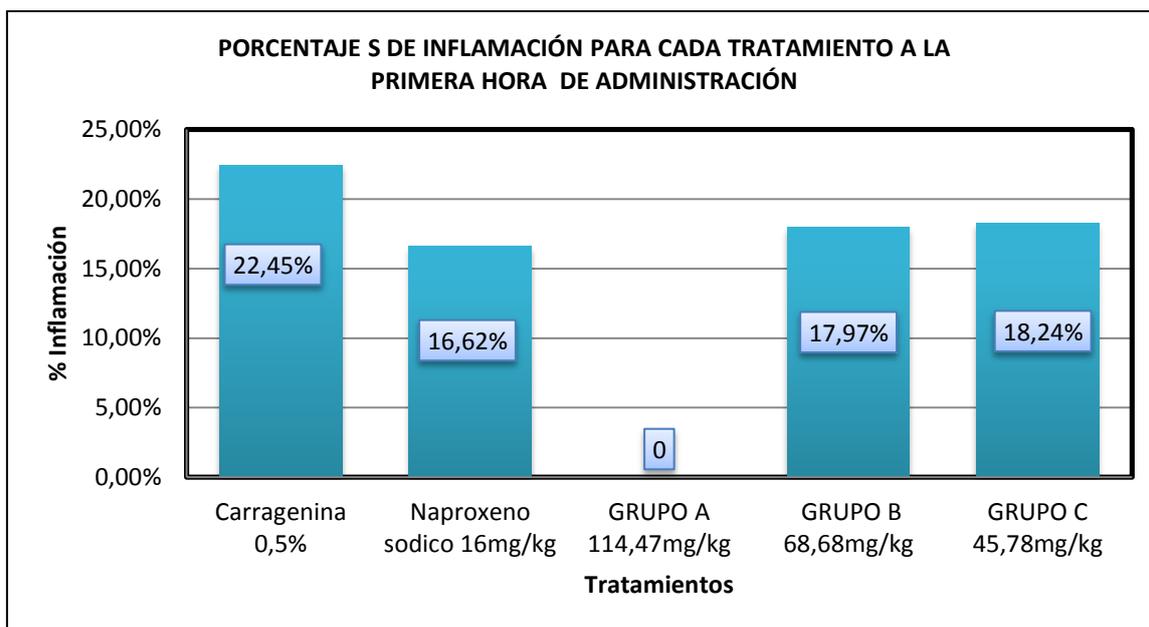


GRÁFICO No 3. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg, GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA PRIMERA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

De los resultados anteriormente mostrados el porcentaje de inflamación a la primera hora se obtuvo un valor mayor en el grupo tratado solo con el agente inflamatorio Carragenina 0,5% (22,45%) y en el Grupo A tratado con el extracto de mayor concentración (114,47 mg/kg) fue de 0 %. El extracto de Carrasquilla en el Grupo A (114,47mg/kg) presenta una mejor actividad antiinflamatoria con respecto al fármaco de referencia Naproxeno sódico 16mg/kg, que presenta un porcentaje de 16,62%. En el Grupo B (68,68mg/kg) y Grupo C (45,78mg/kg) se encuentran porcentajes de 17,79% y 18,24% respectivamente, valores inferiores al fármaco de referencia por lo tanto no existe una buena actividad antiinflamatoria, esto puede ser por una baja concentración de los metabolitos secundarios que le proporcionan dicha actividad.

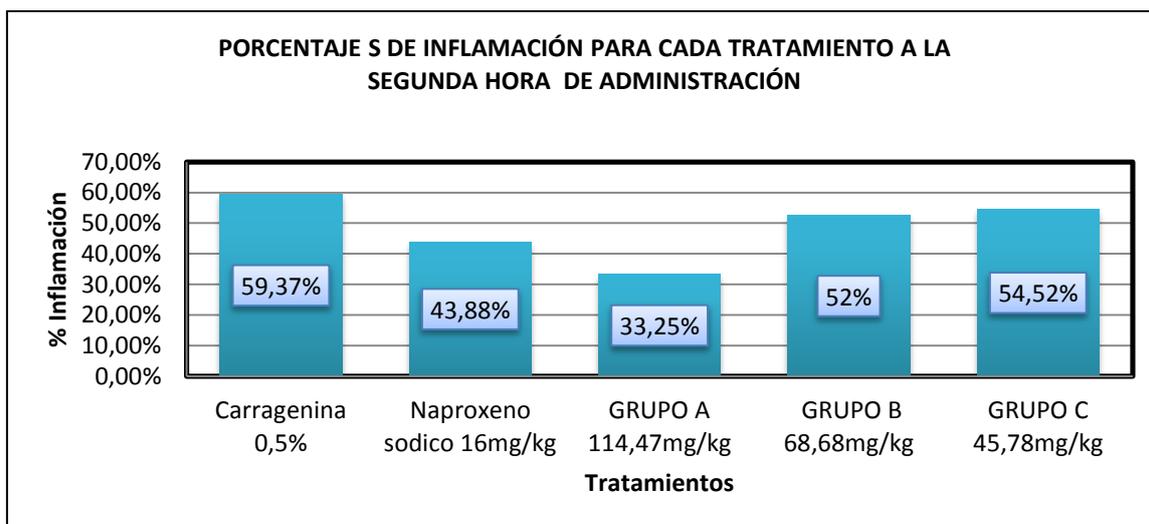


GRÁFICO No 4. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg, GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA SEGUNDA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

Al paso del tiempo la inflamación va en aumento tanto del Grupo tratado con Carragenina 0,5%, Grupo con el fármaco y los Grupos A, B y C tratados a diferentes concentraciones con el extracto de Carrasquilla.

El Grupo A (114,47mg/kg) presenta una mejor actividad antiinflamatoria con un porcentaje de 33,25%, que el fármaco de referencia Naproxeno sódico (16ng/kg) con 43,88% de inflamación, estos nos indica que el extracto de mayor concentración tiene mejor actividad antiinflamatoria.

Los Grupos B (68,68mg/kg) y C (45,78mg/kg) revelan una mayor inflamación con valores de 52% y 54,52% respectivamente, con referencial al grupo tratado con Naproxeno sódico(16mg/kg), pero en relación con el grupo tratado con Carragenina 0,5%, estos grupos presentan porcentajes inferiores lo que indica que si tienen actividad antiinflamatoria pero muy baja.

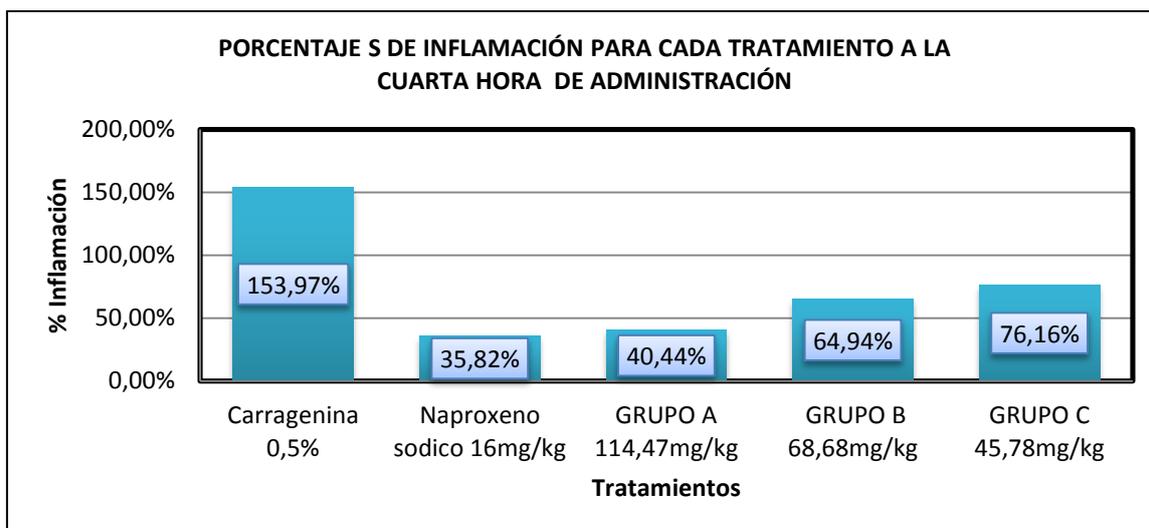


GRÁFICO No 5. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg Y GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA CUARTA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

El grafico señaló un incremento del porcentaje de inflamación en el grupo tratado con carragenina 0,5%, a excepción de los grupos que se les administro principios activos antiinflamatorios.

A la cuarta hora el Naproxeno sódico presento mejor actividad antiinflamatoria con un porcentaje de 35,82% evidencia confirmada con lo establecido en bibliografía (el pico en los niveles de plasma se alcanza dentro de 2 a 4 horas de esta administración) (3) en tanto que el Grupo A presento un porcentaje de 40,44% similar al fármaco de referencia, considerándolo de esta manera como un antiinflamatorio bueno, por ende existe un efecto similar entre estos dos grupos.

Demostrándose en el grafico 6 que a mayor porcentaje de inflamación mejor actividad antiinflamatoria ejercieron los extractos.

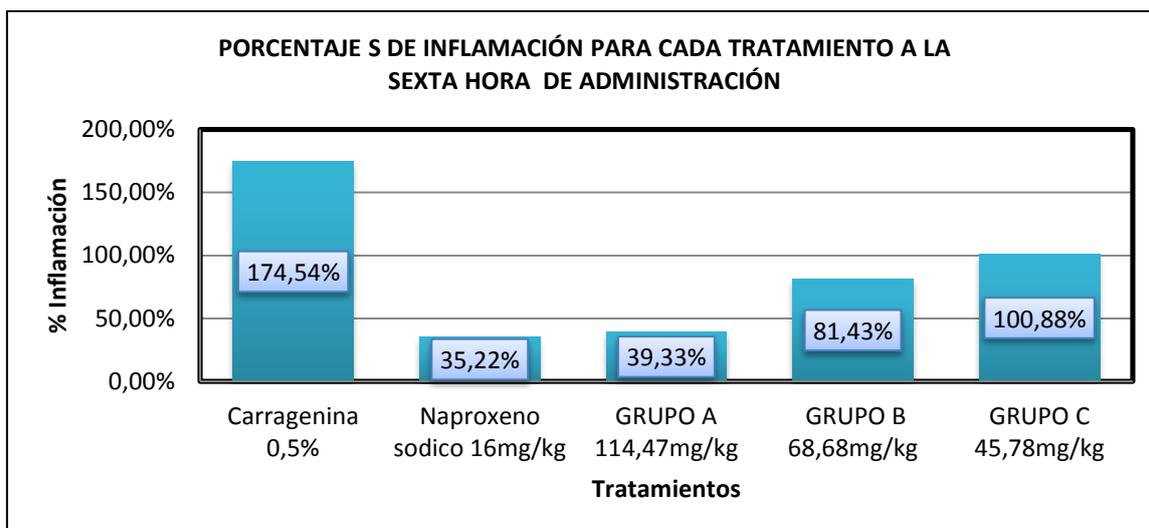


GRÁFICO No 6. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg; GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA SEXTA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

A la sexta hora aparecen los componentes del proceso inflamatorio; rubor (coloración roja); tumor (hinchazón); calor y dolor, además de esto, se observó una respuesta vascular máxima en el grupo tratado con Carragenina 0,5% con un porcentaje de 174,54%, cuyos parámetros no son muy marcados en los demás grupos.

A partir de la sexta hora empieza a bajar el edema del grupo control positivo. En esta hora el Naproxeno sódico presenta una buena actividad antiinflamatoria con un porcentaje de 35,22%, seguido por 39,33% del Grupo A, el mismo que indica mejor actividad que la hora anterior frente a un proceso inflamatorio, similar a la del grupo control positivo.

Los Grupos A y B no reflejan una buena actividad antiinflamatoria, clasificándolos de esta manera como un grupo que presenta baja actividad antiinflamatoria con porcentajes de 81,43% y 100,88% respectivamente, esto con referencia al grupo control positivo, sus respuestas frente a dicha actividad puede ser por una concentración mínima de metabolitos secundarios lo que no ayuda a una mejor actividad o también puede ser porque su absorción es lenta o su eliminación es rápida lo que dio como resultado una menor actividad antiinflamatoria.

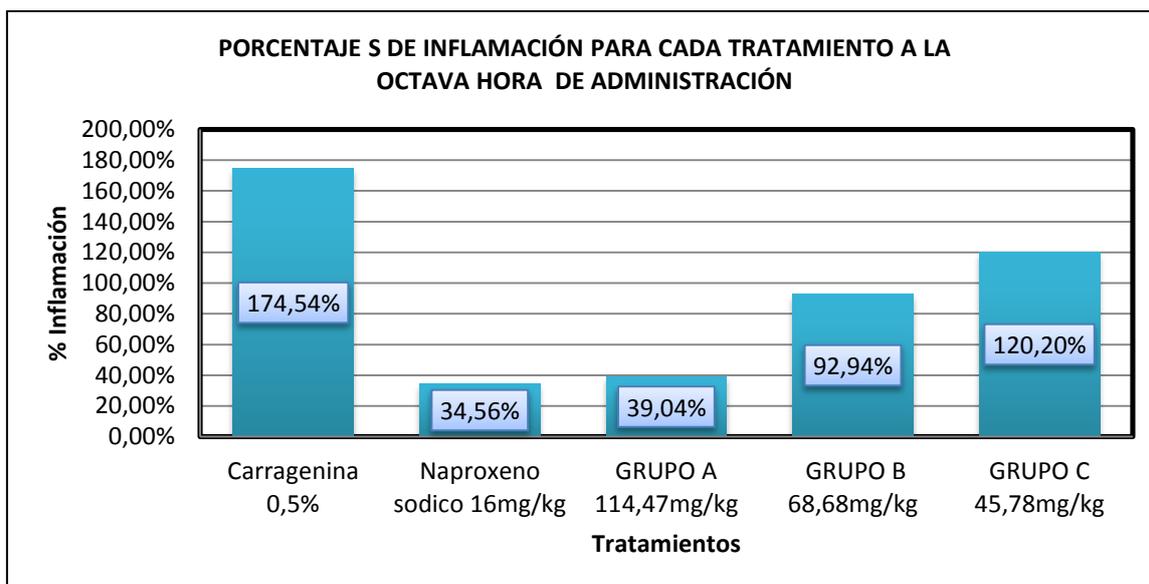


GRÁFICO No 7. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg; GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA OCTAVA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

En el grafico No 8 se observa que a partir de la octava hora se mantiene constante el volumen de la región subplantar de la rata. No aparecen incrementos, del edema producido por Carragenina 0,5%. Mostrando un porcentaje de inflamación 174,54% identico a la hora anterior.

El grupo de Naproxeno sódico y el grupo A mantienen una actividad antiinflamatoria semejante con un porcentaje de 34,56% y 39,04% respectivamente, caracterizándolos como grupos que presentan buena actividad frente a un proceso inflamatorio.

Con respecto a los Grupos A y B que muestran un porcentaje de 92,94% y 120,20%, se ha observa que no sobrepasan los niveles del grupo control negativo 174,54%, pero si al grupo control positivo, por estas características se los considera como grupos que presentan baja actividad antiinflamatoria.

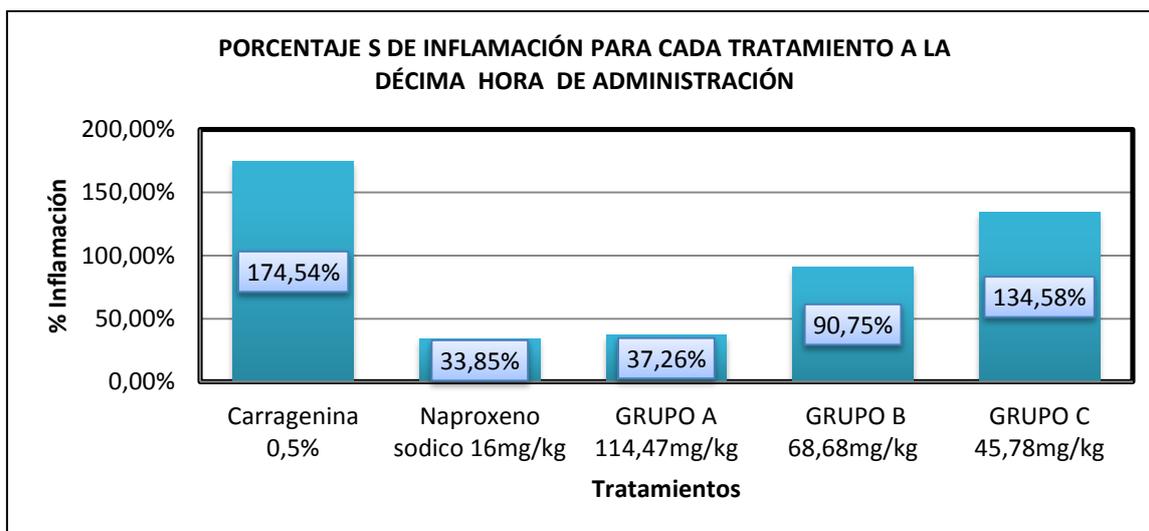


GRÁFICO No 8. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg; GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA DÉCIMA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

Con respecto al volumen de la región subplantar de la rata asistida con Carragenina 0,5% se observa que el porcentaje de inflamación se mantiene constante presentando un valor de 174,54%.

A partir de la décima hora empieza a bajar pronunciadamente el edema del grupo B.

El grupo tratado con Naproxeno sódico presenta una mayor actividad antiinflamatoria de 33,85%, siguiéndole el grupo A de mayor concentración con un porcentaje de 37,26%, catalogándolos como buenos antiinflamatorios. El efecto de los grupos B y C se exhiben con un 90,75% y 134,58%.

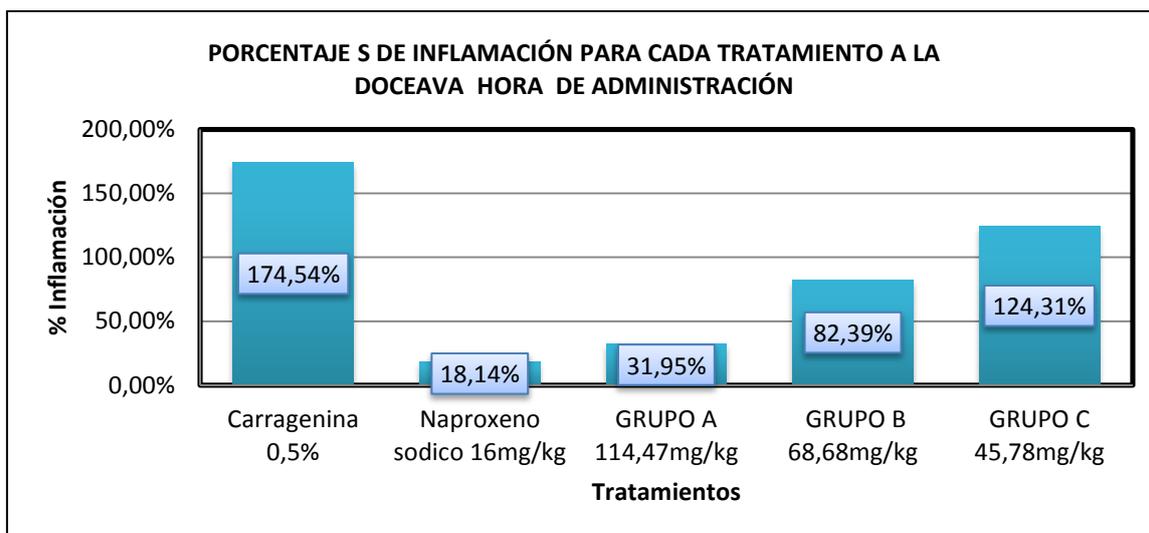


GRÁFICO No 9. EFECTO ANTIINFLAMATORIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE CARRASQUILLA. GRUPO A (114,47) mg/kg; GRUPO B (68,68) mg/kg; GRUPO C (45,78) mg/kg Y NAPROXENO SÓDICO 16 mg/kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA DOCEAVA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH AGOSTO 2012.

En la última hora de la investigación se observa que el control negativo mantiene constante el volumen de la región subplantar de la rata como en la hora anterior, con un porcentaje de 174,54%.

El fármaco de referencia sigue manteniendo su eficiencia en cuanto a su actividad antiinflamatoria incluso regresando al volumen normal de la patita de la rata con un porcentaje de 18,14%, actividad que no ocurre con el grupo A de mayor concentración, este en cambio empieza a disminuir el efecto antiinflamatorio con un porcentaje de 31,95%, es una baja pronunciada de su actividad con relación al grupo del fármaco, por esta razón se recomienda administrar nuevamente la dosis del Grupo A ya que a esta hora empieza a tener un descenso en su actividad en estudio.

El efecto del grupo B y C se mantienen igual que la hora anterior, con un 82,39% y 124,31% respectivamente, pero sin sobrepasar los porcentajes del grupo control negativo. Caracterizándolos por esta razón como dosis que presentan una baja actividad antiinflamatoria.

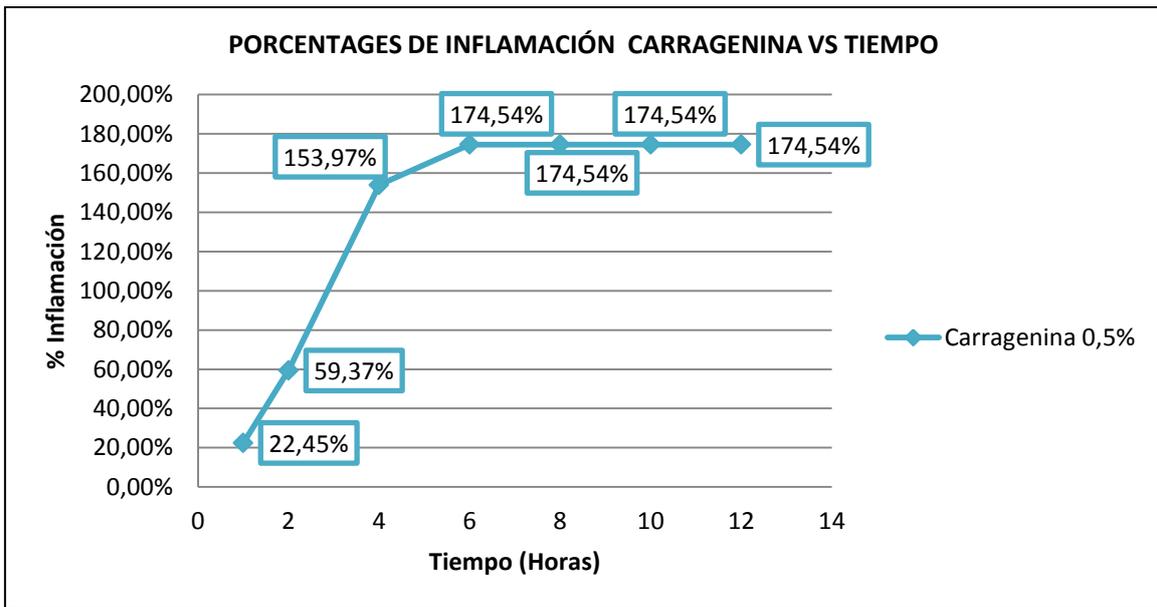


GRÁFICO N^o 10. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO CONTROL PARA CADA TIEMPO (HORAS).

El grupo que recibió solamente Carragenina 0,5%, al paso del tiempo va incrementando su volumen como se puede observar en el gráfico N^o 10, alcanzando un porcentaje máximo de inflamación 174,54% a la sexta hora el cual se mantiene constante hasta las 12 horas, decreciendo su volumen en su totalidad a las 24 horas. Ninguno de los grupos que recibieron tratamientos antiinflamatorios superó al grupo control.

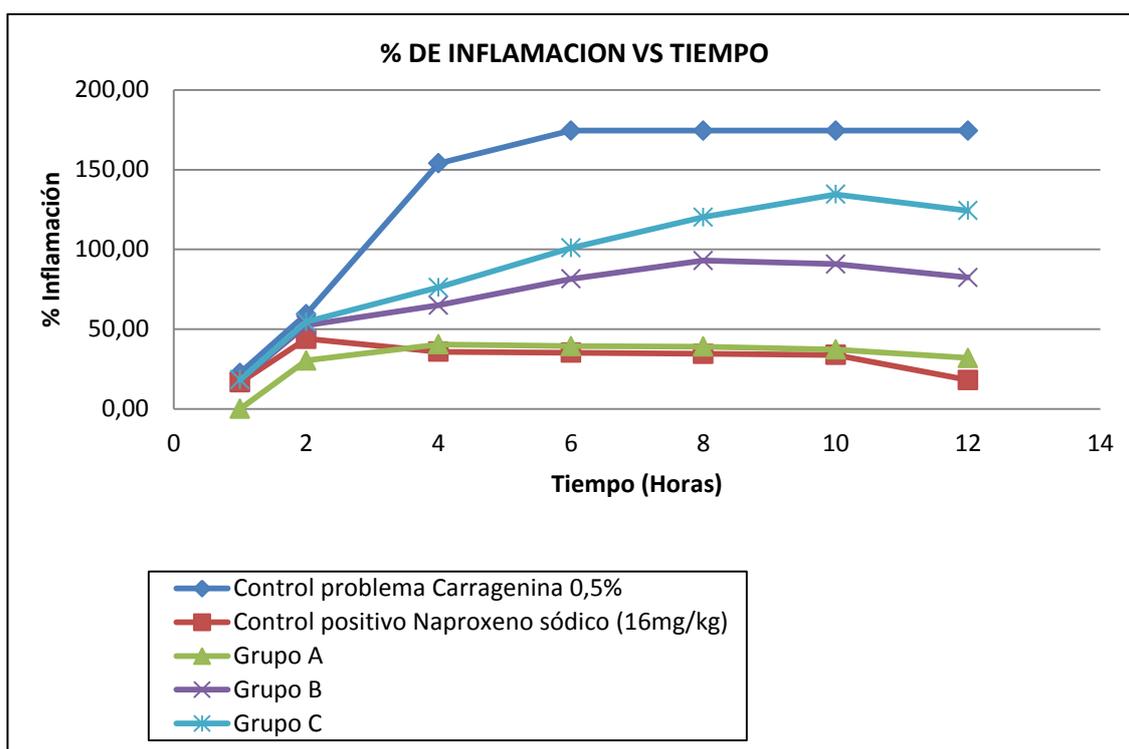


GRÁFICO N^o 11. PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DEL EDEMA PLANTAR AL EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA CON EL EXTRACTO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) A DIFERENTES CONCENTRACIONES. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DE 2012.

Los mayores porcentajes de inflamación durante todo el ensayo, se observaron en el grupo control negativo al cual se le administró solo agua destilada, teniendo su respuesta vascular máxima a la sexta hora que coincide con la liberación de las prostaglandinas con un 174,54% de inflamación. En el grupo tratado con Naproxeno sódico 16 mg/Kg, fármaco de referencia, se observó una disminución del porcentaje de inflamación en todos los tiempos evaluados, a la sexta hora presenta tan solo un 35,22% de Inflamación. La respuesta observada para el Naproxeno sódico estuvo en correspondencia con lo informado en la bibliografía, según su mecanismo de acción. Esta sustancia inhibe la vía de las ciclooxygenasas y por tanto, inhibe la formación y liberación de las prostaglandinas que en esta fase adquieren la máxima manifestación principalmente por inhibición de PGE₂. (27) Con respecto a los grupos tratados A, B y C del extractos etanolico de carrasquilla (*Berberis hallii*) se observó que los valores de inflamación logrados, en todos los tiempos, fueron inferiores a los desarrollados por el grupo control negativo, existiendo diferencia significativa ($\alpha < 0,05$).

CUADRO N^o 11. PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL EDEMA PLANTAR CON DIFERENTES TRATAMIENTOS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DE 2012.

Tiempo (Horas)	Control positivo Naproxeno sódico (16mg/kg)	Grupo A Extracto (114,47 mg/kg)	Grupo B Extracto (68,68 mg/kg)	Grupo C Extracto (45,78 mg/kg)
1	3,74%	13,84%	6,12%	2,85%
2	9,21%	14,20%	6,87%	4,16%
4	32,54%	41,64%	20,98%	13,89%
6	50,09%	46,31%	35,42%	27,31%
8	50,33%	46,43%	32,11%	20,32%
10	50,59%	47,11%	31,33%	15,12%
12	56,39%	49,16%	35,08%	18,83%

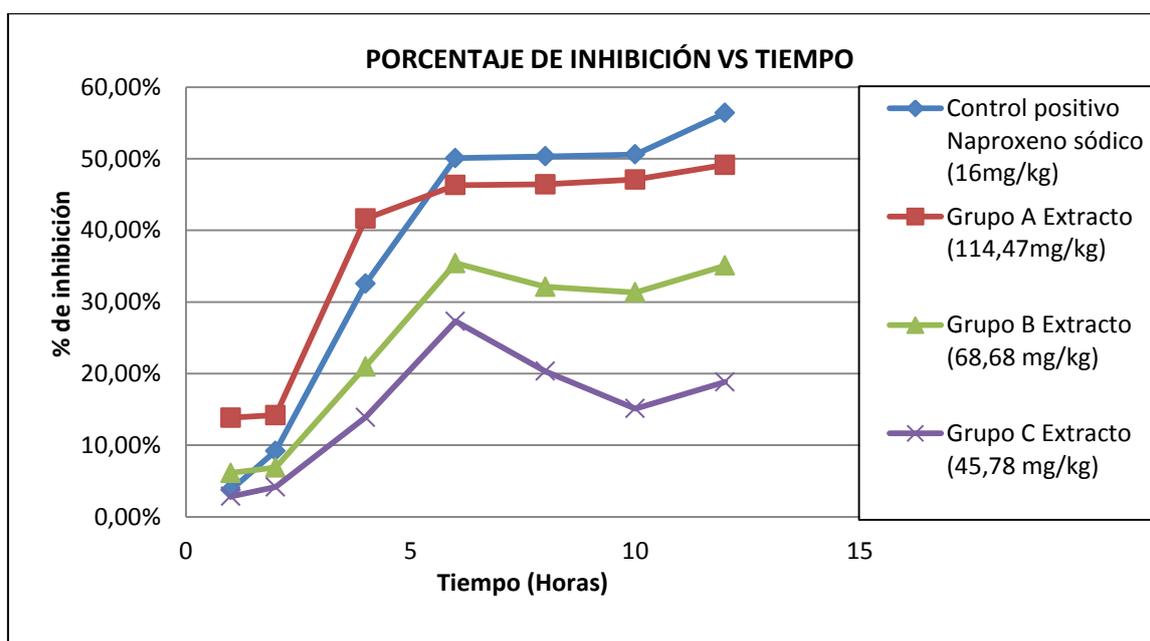


GRÁFICO N^o 12. PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DURANTE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA CON EL EXTRACTO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) A DIFERENTES CONCENTRACIONES. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DE 2012.

Para obtener los porcentajes de inhibición se utilizó la fórmula mencionada en la metodología. En el gráfico N^o 12 se observa que el Grupo A (114,47 mg/kg) inhibe la

producción de prostaglandinas, siendo este el mejor con relación al Grupo B y C. El efecto inhibitor del extracto de mayor concentración de Carrasquilla se debe a la presencia de sus metabolitos secundarios (alcaloides y flavonoides) identificados en trabajos realizados sobre los alcaloides y flavonoides de la planta en estudio. El alcaloide representativo de Carrasquilla que cumple con la actividad antiinflamatoria es la Berberina, actúa sobre las prostaglandinas, de manera similar a la de los AINES como el Naproxeno sódico. De esta manera resultan ser grupos homogéneos con el grupo tratado con el Naproxeno sódico 16 mg/Kg. El grupo que presentó porcentajes de Inhibición similares al medicamento fue el Grupo A, luego el Grupo B y por último el Grupo B que presentó porcentajes de inhibición bajos.

3.6.1.1 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Variable respuesta: Porcentaje de actividad antiinflamatoria de los tratamientos (volumen en cm^3).

Factor de interés: Actividad de los antiinflamatorios.

Unidades experimentales: Ratas.

Modelo: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$

μ : es la media global, asociada con un parámetro desconocido

α_i : efecto debido a la actividad de los antiinflamatorios utilizados

e_{ij} : error asociado a la observación Y_{ij}

Hipótesis nula: Que no existe diferencia significativa en el efecto antiinflamatorio entre los tratamientos de los Grupos A, B, C, el control y el medicamento de referencia aplicado Naproxeno sódico.

Hipótesis alternativa: Al menos dos tratamientos aplicados tienen diferente efecto antiinflamatorio.

CUADRO N^o 12. ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR PARA LOS PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN CON RESPECTO AL TIEMPO.

ANOVA				
FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	PRUEBA F
TRATAMIENTOS	42815,72271	4	10703,9307	93,8069502
ERROR	1141,059447	10	114,105945	
TOTAL	43956,78215	14		

VALOR CRÍTICO = 3,478049691

VALOR p =6,91935E-08

Interpretación: Como el valor del estadístico de prueba (93,806) es mayor que el valor crítico se procede a rechazar la Hipótesis nula, es decir que efectivamente aceptamos que hay diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de inflamación desarrollados de las tres grupos, el medicamento de referencia y el grupo control.

Decisión: Ya que el valor p (6,91935E-08) es menor que el nivel de significancia (0,05) se procede a rechazar Hipótesis nula y concluir que las dosis aplicadas no tienen el mismo efecto antiinflamatorio.

Aplicando la prueba de Tukey para ver cuál es el grupo con similar actividad antiinflamatoria con respecto al medicamento de referencia Naproxeno sódico 16 mg/Kg.

CUADRO N^o 13. COMPARACIÓN ENTRE PARES DE MEDIAS MÉTODO DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
% DE INFLAMACIÓN NAPROXENO SÓDICO	3	18,2733			
% DE INFLAMACIÓN GRUPO A	3	44,6433	44,6433		
% DE INFLAMACIÓN GRUPO B	3		73,1700	73,1700	
% DE INFLAMACIÓN GRUPO C	3			100,8800	
% DE INFLAMACIÓN CARRAGENINA	3				173,5467

NAPROXENO	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	CARRAGENINA
NAPROXENO	GRUPO A	GRUPO B		
NAPROXENO	GRUPO A			

GRÁFICO N^o 13. RESULTADO ESTADÍSTICO DE COMPARACIÓN ENTRE PARES DE MEDIAS PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN APLICANDO TUKEY

Resultados: Vemos que el grupo con actividad antiinflamatoria similar con el medicamento de referencia Naproxeno sódico es el Grupo A ya que presentó porcentajes de Inflamación menores al grupo control y similar al medicamento de referencia. El Grupo C su actividad antiinflamatoria es menor ya que presentó porcentajes de Inflamación altos como los que se desarrollaron en el grupo control.

La prueba de Tukey agrupa los tratamientos estadísticamente homogéneos con grado de significancia logrando establecer que el efecto antiinflamatorio del Naproxeno sódico y el Grupos A tiene la misma eficacia como antiinflamatorio.

CUADRO N^o 14. ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR PARA LOS PORCENTAJES DE INHIBICIÓN.

ANOVA				
FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	PRUEBA F
TRATAMIENTOS	1318,857065	3	439,619022	16,3740444
ERROR	214,7882401	8	26,84853	
TOTAL	1533,645306	11		

CUADRO N^o 15. COMPARACIÓN ENTRE PARES DE MEDIAS METODO DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
% PORCENTAJE DE INHIBICIÓN GRUPO C	3	27,3700		
% PORCENTAJE DE INHIBICIÓN GRUPO B	3	38,3667	38,3667	
% PORCENTAJE DE INHIBICIÓN GRUPO A	3		44,3967	44,3967
% PORCENTAJE DE INHIBICIÓN NAPROXENO SÓDICO	3			56,3933

La prueba de Tukey agrupa los tratamientos estadísticamente homogéneos con grado de significancia logrando establecer que el efecto antiinflamatorio del Naproxeno sódico y el Grupo A tiene la misma eficacia como antiinflamatorio.

A los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza de una vía y se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos y el control ($p < 0.05$), posteriormente se realizó la prueba de Tukey, obteniéndose que el efecto antiinflamatorio de mayor a menor grado quedó de la siguiente manera: Grupo A (114,47mg/kg) > Grupo B (68,68 mg/kg) > Grupo C (45,78 mg/kg). Por lo que se comprueba la hipótesis de que el extracto de Carrasquilla (*Berberis hallii*) tiene una actividad antiinflamatoria similar al Naproxeno sódico ya que constituyen grupos homogéneos. El Grupo A presentó un efecto antiinflamatorio más pronunciado por lo que se podría emplear esta dosificación para realizar un fitofármaco de fácil administración.

3.7 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*).

Grupo Testigo (B): Conformado por tres ratas que se les administro agua destilada 15mL/Kg.

Grupo C: Conformado por cuatro ratas que se les administro extracto de los tallos de Carrasquilla (*Berberis hallii*) 114,47 mg/Kg.

Grupo D: Conformado por cuatro ratas que se les administro extracto de los tallos de Carrasquilla (*Berberis hallii*) 2000 mg/Kg.

Vía de administración: oral

Total de animales: 11 ratas (*Rattus norvegicus*).

Tiempo de observación: 14 días.

Fecha: 1 de Septiembre al 14 de Septiembre del 2012.

CUADRO No 16. ANÁLISIS DE SIGNOS CLÍNICOS EN LOS DÍAS 1 ,7 Y 14. EN RATAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA .BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DE 2012.

CARACTERÍSTICAS	GRUPO B			GRUPO C			GRUPO D		
	1	7	14	3-6-9-12	7	14	3-6-9-12	7	14
	día	días	días	horas. (1) día.	días	días	horas. (1) día.	días	días
Actividad general	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Grito	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Irritabilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respuesta al toque	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Huida	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Patas posteriores	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enderezamiento	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Convulsiones	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lagrimación	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salivación	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Micción	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipotermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muerte	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CUADRO No 17. MEDICIÓN DEL PESO BASAL, INTERMEDIO Y FINAL DE RATAS EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA (GRUPO EXPERIMENTAL).BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DE 2012.

GRUPO	SEXO	PESO EN g		
		DÍA 1	DÍA 7	DÍA 14
GRUPO B	FEMENINO	221,9	224,4	222,8
	FEMENINO	201,7	201,7	201,7
	FEMENINO	202,2	202,0	201,7
GRUPO C	FEMENINO	208,6	217,9	221,0
	FEMENINO	202,7	208,4	202,8
	FEMENINO	218,1	219,3	218,7
GRUPO D	FEMENINO	196,4	195,1	197,1
	MASCULINO	201,7	203,5	202,3
	MASCULINO	214,7	216,4	213,15
	MASCULINO	217,4	218,2	217,6
	MASCULINO	221,9	223,1	223,6

TABLA No 4. RANGO DE MASA CORPORAL CON RELACIÓN A LA EDAD EN SEMANAS DE LA ESPECIE Y LÍNEA DEL MÓDELO BIOLÓGICO.

Edad (semanas)	Masa Corporal (g)
7-8	180-200
8-9	200-220
9-10	220-240

FUENTE: BERMÚDEZ, D. et.al. 2007.

El cuadro N° 16 señalo los valores medios obtenidos de las observaciones realizadas en el primer, séptimo y catorceavo día después de la administración de las dosis 114,47 y 2000 (mg/kg) del extracto de Carrasquilla (*Berberis halliii*), es así que las características observadas presentaron valores normales similares al grupo B, por lo tanto no existe toxicidad evidente, no hay alteración de los signos en el lapso de 14 días, obteniéndose así un 100% de supervivencia de las ratas.

En el cuadro No 17 se demuestra que en los Grupo B, C y D no existe una diferencia significativa entre los pesos pre-experimentales y post-experimentales, esto indica que el extracto de carrasquilla (*Berberis halliii*) en el lapso de 14 días no tiene efecto en la alimentación y por ende en el peso lo que conlleva a mantenerse en un peso normal. Estos pesos se encuentran dentro los valores normales de una rata de 9-10 semanas de edad que va desde 220-240 g de peso corporal. (Tabla No. 4) .Cave recalcar que una rata del Grupo C, el aumento de su peso era porque estaba en un periodo de gestación.

3.8 EXAMEN HISTOPATOLÓGICO A RATAS (*Rattus novergicus*)

Posterior al experimento se debe realizar la autopsia a todos los animales y extraer los órganos como el estómago, hígado y riñones, para su respectivo análisis histopatológico.

CUADRO N^o 18. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO A RATAS (*Rattus norvegicus*) QUE SE LES ADMINISTRO EXTRACTO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*) PARA LA INVESTIGACIÓN DEL EFECTO TOXICO. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012

MUESTRA	EXAMEN MACROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
● Blanco (B ₁ E/12)	Estomago Color: Mucosa de color gris Ancho: 1 cm Largo: 3 cm Peso: 1,5 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Blanco (B ₁ H/12)	Hígado Color: Rojo Vinoso Ancho: 4 cm Largo: 5 cm Peso: 6,6 g	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Blanco (B ₁ R/12)	Riñones Color: Rojo Vino Ancho: 1 cm Largo: 3 cm Peso: 0,7 g	Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Blanco (B ₂ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris más Pálido Ancho: 2,5 cm Largo: 2 cm Peso: 2,7 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Blanco (B ₂ H/12)	Hígado Color: Rojo más Pálido Ancho: 3 cm Largo: 4 cm Peso: 7,4 g	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Blanco (B ₂ R/12)	Riñones Color: Rojo más Pálido Ancho: 1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,9 g	Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Blanco (B ₃ E/12)	Estomago Color: Mucosa de color gris Ancho: 1 cm Largo: 3 cm Peso: 1,5 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Blanco (B ₃ H/12)	Hígado Color: Rojo Vinoso Ancho: 4 cm Largo: 5 cm Peso: 6,6 g	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Blanco (B ₃ R/12)	Riñones Color: Rojo Vino Ancho: 1 cm Largo: 3 cm Peso: 0,7 g	Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.

● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₁ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris Ancho:2 cm Largo: 2,5 cm Peso: 1,5 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₁ H/12)	Hígado Color: Rojo Vinoso Ancho:3 cm Largo: 4.5 cm Peso: 7,4 g	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₁ R/12)	Riñones Color: Rojo Vino Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,6 g	Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₂ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris Ancho:2 cm Largo: 2,5 cm Peso: 2 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₂ H/12)	Hígado Color: Rojo Vinoso Ancho:4,5 cm Largo: 3,5 cm Peso: 7 g	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₂ R/12)	Riñones Color: Rojo Vino Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,8 g	Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₃ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris Pálido Ancho:2 cm Largo: 2,5 cm Peso: 1,8 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₃ H/12)	Hígado Color: Rojo Pálido Ancho:3,5 cm Largo: 4.5 cm Peso: 7,7 g	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Extracto (114,47 mg/Kg) (R ₃ R/12)	Riñones Color: Rojo Pálido Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,6 g	Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₂ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris Pálido Ancho:2,5 cm Largo: 1,5 cm Peso: 1,9 g	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₂ H/12)	Hígado Color: Rojo Pálido Ancho:3 cm Largo: 4.5 cm	Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.

		Peso: 7 g	
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₂ R/12)	Riñones Color: Rojo Pálido Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,8g		Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₃ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris Pálido Ancho:1,5 cm Largo: 3 cm Peso: 1,8 g		Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₃ H/12)	Hígado Color: Rojo Pálido Ancho:3 cm Largo: 4.5 cm Peso: 7,6 g		Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₃ R/12)	Riñones Color: Rojo Pálido Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,7 g		Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Extracto (2000mg/Kg) (A ₁ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris Pálido Ancho:1,5 cm Largo: 3 cm Peso: 1,8 g		Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₁ H/12)	Hígado Color: Rojo Pálido Ancho:3,5 cm Largo: 4.5 cm Peso: 7,9 g		Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₁ R/12)	Riñones Color: Rojo Pálido Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,7 g		Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₄ E/12)	Estomago Color: Mucosa Gris más Pálido Ancho:1,5 cm Largo: 3 cm Peso: 2 g		Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado; Muscularis mucosa conservada.
● Extracto (2000mg/Kg) (A ₄ H/12)	Hígado Color: Rojo más Pálido Ancho:3 cm Largo: 4 cm Peso: 6,5 g		Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal; Hepatocitos conservados; Espacios porta normales.
● Extracto (2000 mg/Kg) (A ₄ R/12)	Riñones Color: Rojo más Pálido Ancho:1 cm Largo: 2 cm Peso: 0,7 g		Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada; Espacio de Bowman y de calibre normal.

En el análisis macroscópico se observó que el peso, color, ancho y largo del estómago, hígado y riñones del Grupo B, C y D, se encuentran en un estado normal. El examen microscópico del estómago presento mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; Calibre de los vasos adecuado y muscularis mucosa conservada. El hígado presenta Lobulillos, Hepatocitos de arquitectura normal; Vena centro lobulillar de calibre normal y Hepatocitos conservados; Espacios porta normales y por último el examen microscópico del riñón presenta Nefronas de distribución normal; Glomerulos de circulación adecuada y Espacio de Bowman de calibre normal.

Estómago si anomalías; Hígado: sin lesión patológica; Riñón: sin lesión patológica.

Esto nos indica que durante el análisis microscópico y macroscópico de los órganos estómago, hígado y riñones no se observó afectación en ninguno de ellos, presentan una estructura histológica normal, por lo tanto el extracto de carrasquilla (*Berberis hallii*) en dosis de 114,47 y 2000 (mg/kg) no es tóxico. (Ver Anexo 10,11).

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se confirmó la hipótesis planteada, las concentraciones de 114.47, 68.68, 45.78 (mg/kg) del extracto de tallos de Carrasquilla (*Berberis hallii*) presento actividad antiinflamatoria frente al edema plantar en ratas inducida con carragenina, caracterizándose la concentración de 114.47 mg/kg por disminuir la inflamación hasta valores similares a los del Naproxeno sódico, mostrando un mayor efecto con respecto a las demás dosis. A mayor dosis mejor el efecto antiinflamatorio. (Cuadro N^o. 10, Gráfico N^o. 11)
2. El extracto etanólico de carrasquilla (*Berberis hallii*) presento un color amarillento y un olor amaderado. El porcentaje de rendimiento es de 8,34%, con densidad relativa 1,0209 mg/mL, humedad 12%, índice de refracción 1.344, pH 4.68, flavonoides 48% y alcaloides totales 51% la presencia de la misma tiene relevante importancia, en la planta en estudio, ya que a estos metabolitos secundarios se le atribuye el efecto antiinflamatorio. (Cuadro N^o. 5, Cuadro N^o. 6)
3. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que la DL50 se ubicó por encima de 2000 mg/Kg, no provocó mortalidad y no se encontraron alteraciones morfológicas relacionadas con la toxicidad, clasificándose a la sustancia (alcaloide) en estudio como no tóxica.(Cuadro N^o. 18)

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Elaborar un fitofármaco a base de Carrasquilla (*Berberis hallii*) para aplicarlos en procesos inflamatorios.
2. Debe realizarse más investigaciones con la Carrasquilla ya que también se le atribuye propiedades laxantes, digestivas y diuréticas. Sería un gran aporte a la ciencia ya que es una planta recién estudiada en nuestro país que puede participar en la formulación de fitofármacos para el tratamiento de diversas patologías.
3. Realizar estudios de toxicidad con concentraciones mayores a 2000 mg/kg del extracto de carrasquilla.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

En esta investigación se comprobó el efecto antiinflamatorio del extracto de Carrasquilla (*Berberis hallii*) mediante el modelo de inducción de edema plantar en ratas (*Rattus norvegicus*) en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH. Se utilizó 15 ratas dividido en 5 grupos: Control positivo, Control negativo, A, B, y grupo C. Como testigo se usa las mediciones del tiempo 0 horas de todas las ratas. La inflamación se indujo con Carragenina al 0.5%. El tratamiento consiste en administrar vía oral al control positivo el antiinflamatorio Naproxeno sódico 16 mg/kg, en tanto que a los grupos A, B y C extractos de Carrasquilla a concentraciones de 114.47, 68.68 y 45.78 (mg/kg) respectivamente y el grupo negativo que recibió solo el vehículo agua destilada. Se midió los volúmenes de inflamación desde las 0 hasta las 12 horas posteriormente se calculó los porcentajes de inflamación e inhibición cada dos horas, los resultados demostraron que el control negativo mantuvo la inflamación. El control positivo inhibió las prostaglandinas en un porcentaje de 56.39 a las 12 horas. Las concentraciones de los grupos A, B y C inhibieron a las prostaglandinas en un porcentaje inferior al del grupo control (49.16%, 35.08% y 18,83%). El Efecto antiinflamatorio obtenido en forma creciente es: A>B>C. Se concluyó que las dosis del extracto de Carrasquilla presento efecto antiinflamatorio durante las 12 horas del ensayo, a partir de la doceava hora el edema desciende progresivamente. La investigación fue ampliada con el estudio de toxicidad aguda administrando extracto de Carrasquilla a concentraciones de 114.47 y 2000 mg/kg, observándose ausencia de mortalidad y de alteraciones morfológicas, clasificándose de esta manera a la planta en estudio como no toxica.

SUMMARY

This research tested the anti-inflammatory effect of the Carrasquilla extract (*Berberis hallii*) by the plantar edema induction model in rats (*Rattus norvegicus*) in the animal facility of the Biochemistry and Pharmacy Faculty in the Superior Polytechnic School of Chimborazo. Fifteen rats divided into 5 groups were studied: positive control, negative control, A, B and group C. As control 0 hours time measurements are used in all rats. Inflammation was induced with 0.5% Carrageenan. The treatment comprises administering the inflammatory Naproxen sodium 16 mg/kg orally to the positive control group, while groups A, B and C were administering Carrasquilla extracts at concentrations of 114.47, 68.68 and 45.78 (mg/kg) respectively and the negative control was only given distilled water. The swelling volumes were measured from 0 to 12 hours, after that, inflammation and inhibition percentages were calculated every two hours, results showed that inflammation remained in the negative control. The positive control inhibited prostaglandin in a percentage of 56.39 to 12 hours. Groups A, B and C concentrations inhibited prostaglandins in a lower percentage than the control group (49.16%, 35.08% and 18.83%). The anti-inflammatory effect obtained increasingly is: A>B>C. It was concluded that the Carrasquilla extract dose presented anti-inflammatory effect within 12 hours of the test, from the twelfth hour the edema decreases gradually. The investigation was extended with the acute toxicity study administering Carrasquilla extract at concentrations of 114.47 and 2000 mg/kg, no mortality and morphological alterations were observed, thus classifying the studied plant as nontoxic.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALEMÁN, C.**, Toxicología aguda del D-002 en dos especies no roedoras., Barcelona – España., Elsevier Masson., 2001., Pp. 32-55
2. **ARA, A.**, 100 Plantas medicinales escogidas: una guía de plantas de todo el mundo seleccionadas por su valor terapéutico., 3^a.ed., Madrid-España., Edaf. S.A., 1997., Pp. 15-29
3. **ARAUJO, L.**, Comparación de la actividad anti-inflamatoria de los polifenoles presentes en las frutas; Mora (*Rubus fruticosus* B.), Fresa (*Fragaria vesca* L.) y Grapefruit (*Citrus paradisi* M.), REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA (Venezuela) (44)., 2002., Pp. 1-6
4. **ARISTIL, P.**, Farmacología básica y clínica. 5^a.ed. México DF-México., Mc Graw Hill Interamericana. 2010., Pp. 199-201
5. **BERNAL, H., CORREA, Q.**, Berberidaceae especies promisorias vegetales de los países del Convenio Andrés Bello., Tomo II., Secab Ciencia y Tecnología 12, Bogotá-Colombia., 1989., Pp. 58-125
6. **BONILLA, L.**, Evaluación de la Actividad Antimicrobiana del Extracto Etanólico de Carrasquilla (*Berberis hallii*) sobre *Escherichia coli* ATCC N° 9637, *Candida albicans* ATCC N°10231, *Pseudomona aeruginosa* ATCC N° 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC N°6538. Tesis. Riobamba– Ecuador.

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica Farmacia., 2011., Pp. 104-105

7. **CAMARGO, L.,** Especies nuevas del género *Berberis* de Colombia, Ecuador y Venezuela., 1966., Pp. 68-71
8. **CAMPBELL, P.,** Bioquímica Ilustrada., 5ª.ed., Madrid-España., Elsevier Masson., 200., P. 199
9. **CÁRDENAS, M.,** Farmacología., 1ª.ed., Riobamba-Ecuador., Workcenter., 2001., Pp. 161-176
10. **CARRANZA, R.,** Guía de farmacología y terapéutica., 2ª.ed., México DF-México., Mc Graw Hill Interamericana., 2009., Pp. 43-47
11. **CASCALES, M.,** Bioquímica y Fisiología del Sistema inmune., Madrid – España., Realigraf S.A., 2007., Pp. 31-61
12. **CYTED.,** Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo Manual de Técnicas de Investigación., 1995., Pp. 81-86, 216-225.
13. **FIGUEROA, Y.,** Glosario farmacológico., 2ª.ed., Mexica DF-México., 1999., Pp. 56-79
14. **GILG, E.,** Farmacognosia., Madrid – España., Labor S.A., 1932., Pp. 2-4
15. **GIMÉNEZ, A., AVILA, J., RUIZ, G.,** Estudios químicos, biológicos y farmacológicos de *Galipea longiflora* Krause., Madrid – España., Rev Bol Quim., 2005., Pp. 94-107
16. **GUADARRAMA, B.,** Determinación de la Actividad Antiinflamatoria de dos muestras de *Sphaeralcea angustifolia* y la interacción del extracto activo con

fármacos de uso clínico. Tesis. D.F. México – México. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la salud., 2006., Pp. 11-33., 39-42

17. **GUIMARO, A.**, Plantas que curan., 2ª.ed., Florida., Safeliz., 2006., P. 33
18. **JANEWAY, CH.**, Inmunología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad., Madrid - España., Masson., 2003., Pp. 1233-1256
19. **LOCK, O.**, Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales., Lima., Labor S.A., 1988., P. 213
20. **PAMPLOMA, J.**, Enciclopedia de las plantas medicinales., 2ª.ed., Florida. Safeliz., 2007., P. 384
21. **REPETTO, M.**, Toxicología fundamental. Toxicología experimental. Toxicidad aguda., 3ª.ed., Madrid - España., Enpses-mercier group., 2002., Pp. 295-298.
22. **SAMANIEGO, E.**, Fundamentos de farmacología médica., 6ª.ed., Quito - Ecuador., Casa de la Cultura Ecuatoriana., 2005., Pp. 427-443
23. **SÁNCHEZ, M.**, Comprobación de la actividad tintórea en fibras orgánicas y sintéticas de la *Berberis hallii*. Tesis. Riobamba– Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica Farmacia., 2010., Pp. 88-89
24. **SIÑANI, G.**, Determinación de la Actividad Antiinflamatoria e Interacción de Extractos de la Planta Kiswara (*Buddleja coriácea* Rémy) con Dexametasona, mediante los ensayos de Edema plantar y Auricular en modelo murino., Tesis., Bolivia., Universidad Mayor de San Andrés,

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Carrera de Bioquímica.,
2009., Pp. 18-20

25. SILVA, C., Cuantificación de los alcaloides de *Berberis hallii* “Carrasquilla” Sector la Josefina San Isidro del Cantón Guano Provincia de Chimborazo., Tesis., Riobamba– Ecuador., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica Farmacia., 2010., Pp. 122-123

26. WILLIAMS. P, BURSON, J., Industrial toxicology Safety and Health Application in the Work Place., New York: Edit., De Van Norstrand Rein Hold Company. 1985., Pp. 45-49

27. ALEBREM

<http://www.medicamentos.com.mx/DocHTM/22820.htm>

2012-01-10

28. AGRAZONES, BERBERO, EGRESILLO, CARRASQUILLA, AGRACILLO.

<http://www.infojardin.net/.../plantas.../berberis-vulgaris.htm>

2012-05-10

29. AGRACEJO

<http://holadoctor.com/es/hierbas-y-suplementos-a-z/agracejo>

2012-04-25

30. ALCALOIDES

<http://www.slideshare.net/fabiman/alcaloides>

2012-05-10

31. ANTIINFLAMATORIOS

<http://www.salud.com/salud-en-general/los-antiinflamatorios-y-sus-efectos-colaterales.asp>

2012-05-10

32. APLICACIONES MEDICINALES

<http://www.selecciones.es/agracejo>

20120510

33. APLICACIONES DEL GÉNERO *Berberis*

<http://notasdenuestrosaliens.blogspot.com/2010/08/agracejo-zarzoso-de-mayo-junio-exas-tu.html>

2012-05-10

34. *Berberis hallii*

http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=103816

2012-04-10

35. *Berberis hallii* ALCALOIDE

<http://www.slideshare.net/fabiman/alcaloides>

<http://notasdenuestrosaliens.blogspot.com/2010/08/agracejo-zarzoso-de-mayo-junio-exas-tu.html>

2012-04-25

36. BERBERIDACEAE

http://www.natureduca.com/med_espec_agracejo.php

2012-04-25

37. BERBERIS

http://flora.huh.harvard.edu/FloraData/060/PDF/V01/Volume1-Part1_Berberis.pdf

2012-04-10

38. BERBERIS VULGARIS

http://www.linneo.net/.../berberis_vulgaris/berberis_vulgaris.htm

2012-05-10

- 39. BERMÚDEZ, D. et al.** Evaluación de la toxicidad aguda de extractos de Plantas medicinales por un método alternativo (Evaluation of acute toxicity of extracts of medicinal plants by an alternative testing)

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307/030706.pdf>

2012-03-01

- 40. BORDÉS, R. et al.** El Proceso Inflamatorio

<http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm>

2012-08-19

- 41. CAPDEVILA, P.** Flavonoides

http://www.03_Memoria.pdf

2012-04-25

- 42. CARRAGENINA**

<http://www.agargel.com.br/carragenina.html>

2012-05-10

- 43. CARRASQUILLA**

<http://www.hierbitas.com/nombrecomun/CARRASQUILLA.htm>

2012-05-10

- 44. CARRASQUILLA COMO USO MEDICINAL**

<http://hipernatural.net/es/pltcarrasquilla.html>

2012-04-10

- 45. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA**

http://www.biovirtual.unal.edu.co/nombrescomunes/buscador/bnc_plants/result/t;científico/q:Berberishallii

2012-04-25

46. COMPOSICIÓN QUÍMICA

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S10284796200401008&script=sci_arttext
2012-05-10

47. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

<http://notasdenuestrosaliens.blogspot.com/2010/08/agracejo-zarzoso-de-mayo-junio-exas-tu.html>
2012-04-25

48. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBL

<http://www.bedri.es/Libreta-de-apuntes/F/FL/Flavonoides.htm>
2012-04-25

49. ESTUDIOS CLÍNICOS BERBERINA

http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxón_id=103816
2012-04-25

50. FLAVONOIDES

http://www.bedri.es/Libreta_de_apuntes/F/FL/Flavonoides.htm
2012-04-10

51. FLAVONOIDS, PHINOLIC ACID, AND HYDROXYCOUMARINS OF VARIOS SPECIES OF THE GENUS *Berberis*.

<http://www.springerlink.com/index/x26u10181268261q.pdf>
2012-04-10

52. GÓMEZ, H. GONZÁLEZ, K. DOMINGO, J. Actividad antiinflamatoria de productos naturales boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.

<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/856/85618379003.pdf>
2012-05-10

53. GONZÁLEZ, B. EL proceso inflamatorio

<http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm>

2012-04-25

54. INFLAMACIÓN

<http://www.uco.es/grupos/inmunologiamolecular/inmunologia/>

<tema25/etexto25.htm>

2012-05-10

55. LAGARTO, A. et al. Toxicidad aguda oral y subcrónica en ratas de un extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum L.*

<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=91922304>

2012-05-23

56. LÓPEZ, T. PADRÓ, L. Determinación de los parámetros de calidad y composición químico-cualitativa de la tintura de Ítamo Real.

<http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/1968/1521>

2012-05-23

57. MECANISMOS GENERALES DE DEFENSA: Aspectos Inmunes de la Respuesta Inflamatoria.

<http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto-pdf/tema-25.pdf>

2012-08-25

58. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINALES

<http://www.monografias.com>

2012-08-25

59. ORTIZ, G. Revisión bibliográfica.

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/leip/ortiz_bs/capitulo2.pdf

2012-05-10

60. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lpro/lopez_e/capitulo1.pdf

2012-04-25

61. PLANTAS MEDICINALES

<http://rjb.revistas.csic.es/index.php/rjb/article/view/44/44>

2012-04-10

62. PLANTAS COMO ANTIINFLAMATORIOS

http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%206_7.pdf

2012-05-10

63. PRECAUCIONES

<http://www.cepvi.com/medicina/plantas/berberis2.shtml>

2012-05-10

64. PRODUCTOS NATURALES DE USO MEDICINAL

http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf

2012-04-10

65. PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATAS

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbc/baez_c_g/capitulo11.pdf

2012-05-23

66. RATTUS NOVERGICUS

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas//Rattusnorvegicus00pdf>

2012-05-23

67. SEGURIDAD Y EFICACIA DE LAS PLANTAS

http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol36_s_02/F%20Producciones%20PlantasProd.Pdf

2012-05-10

68. SUSTANCIAS ACTIVAS

http://www.natureduca.com/med_sustanc_alcaloides.php

2012-04-25

69. TALLER NACIONAL SOBRE INFLAMACIÓN SOCIEDAD CUBANA DE FARMACOLOGÍA

<http://biblioteca.idict.villaclara.cu/UserFiles/File/plantas%20medicinales%20y%20los%20hipoglicemiantes/11%20.pdf#page=18>

2012-05-23

70. TOXICIDAD AGUDA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

<http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

20120523

71. Toxicología Aguda Oral de la decocción de la *Peperomia pellucida* (L.) H.B.K. (Corazón de hombre)

<http://www.sertox.com.ar/retel/n02/001.pdf>

2012-05-23

72. USOS MEDICINALES

http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23804/1/articulo44_12.pdf

2012-04-25

73. USOS DE BERBERIS VULGARIS

<http://www.casapia.com/informaciones/Fitoquimicos-Nutrientes-Futuro/Fenoles.htm>

2012-05-10

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No 1. IDENTIFICACIÓN Y RECOLECCIÓN DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*BERBERIS HALLII*). PARROQUIA PUNIN .CANTÓN RIOBAMBA. PROVINCIA DE CHIMBORAZO MAYO 2012.



FOTOGRAFÍA N_o 2. FLORES Y HOJAS



FOTOGRAFÍA N_o 3. FRUTOS



FOTOGRAFÍA N_o 4. TALLO
(Materia prima)

ANEXO No. 2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2012.



**FOTOGRAFÍA No. 5.
MACERACIÓN**

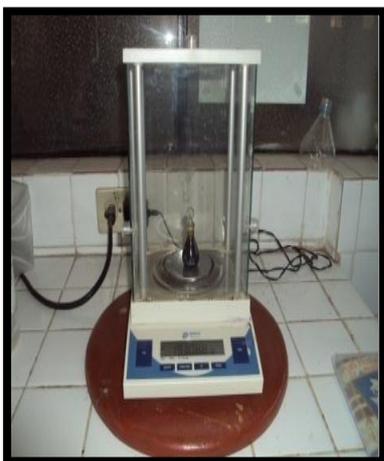


**FOTOGRAFÍA No. 6.
CONCENTRACIÓN**



**FOTOGRAFÍA No. 7.
EXTRACTO
CONCENTRADO**

ANEXO No. 3. PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2012.



**FOTOGRAFÍA No. 8.
DENSIDAD RELATIVA**



**FOTOGRAFÍA No. 9.
ÍNDICE DE
REFRACCIÓN**



**FOTOGRAFÍA No. 10.
pH**



FOTOGRAFÍA N_o 11.
COLOR



FOTOGRAFÍA N_o 12.
OLOR Y ASPECTO

ANEXO No 4. EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LOS TALLOS DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.



FOTOGRAFÍA N_o 13.
ALCALOIDES



FOTOGRAFÍA N_o 14.
FLAVONOIDES

ANEXO No 5. LECTURAS EN EL ESPECTROFOTÓMETRO DE ALCALOIDES Y FLAVONOIDES CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2012.



FOTOGRAFÍA N_o 15.
ALCALOIDES



FOTOGRAFÍA N_o 16.
FLAVONOIDES



FOTOGRAFÍA N^o 17. LECTURA DE
ALCALOIDES Y FLAVONOIDES

ANEXO N^o 6. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA (*Berberis hallii*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DE 2012.



FOTOGRAFÍA No 18. GRUPOS EXPERIMENTALES DE RATAS (*Rattus norvegicus*): CONTROL POSITIVO (NAPROXENO SODICO 16 mg/kg), CONTROL NEGATIVO (CARRAGENINA 0,5%), EXTRACTO DE CARRASQUILLA GRUPO A (114,47mg/kg), GRUPO B (68,68 mg/kg) Y GRUPO C (45,78 mg/kg). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO 2012.

ANEXO No 7. ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE CARRASQUILLA A LAS RATAS (*Rattus norvegicus*).BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO 2012.



FOTOGRAFÍA No 19. TOMA DE PESOS DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

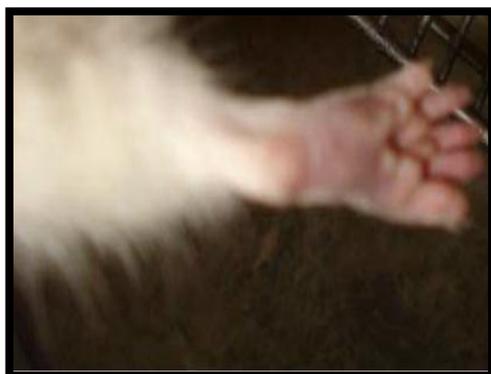


FOTOGRAFÍA No 20. ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO

**ANEXO No 8. FORMACIÓN DEL EDEMA PLANTAR EN LAS RATAS (*Rattus norvegicus*).
BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO 2012.**



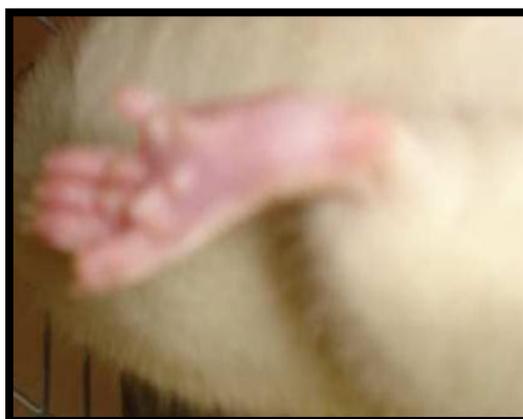
FOTOGRAFÍA No 21.FORMACION DEL EDEMA



**FOTOGRAFÍA No 22.
Acción del antiinflamatorio**



**FOTOGRAFÍA No 23.
Grupo A (114,47mg/kg)**

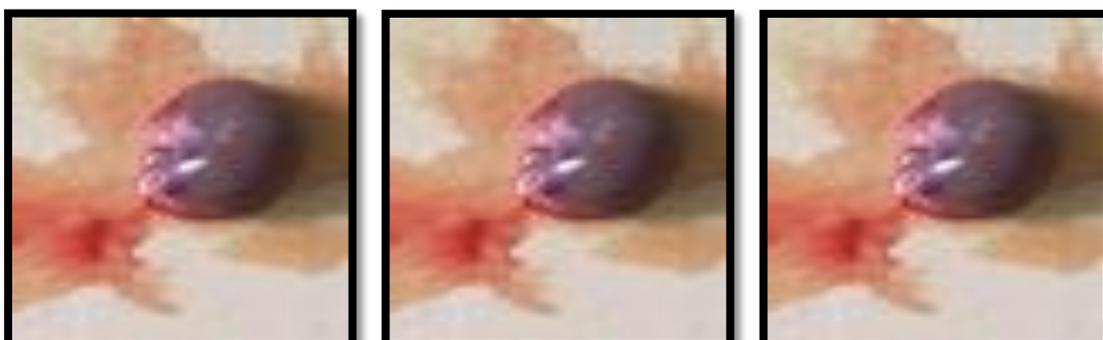
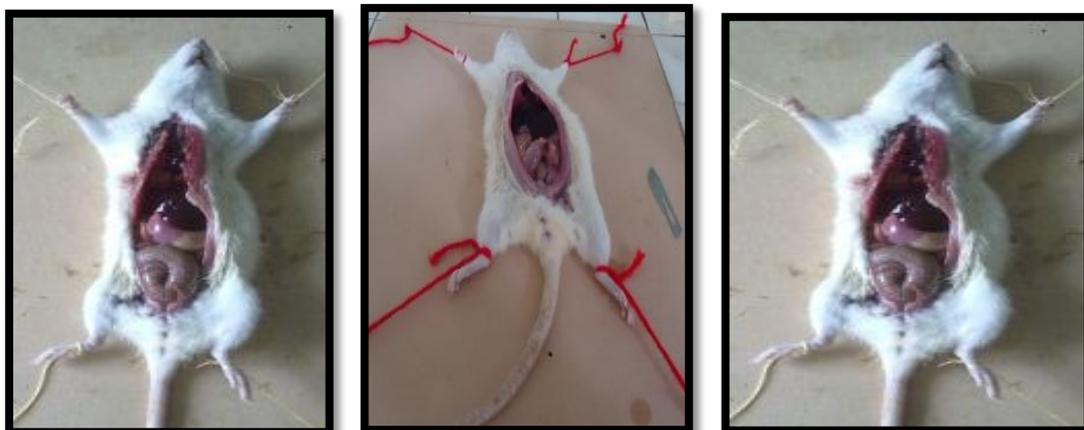


**FOTOGRAFÍA No 24.
Grupo B (68,68mg/kg)**



**FOTOGRAFÍA No 25.
Grupo C (45,78mg/kg)**

ANEXO No 9. ANÁLISIS MACROSCÓPICA DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DERECHO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DEL GRUPO A (114,47MG/KG) Y GRUPO CON DOSIS TOXICA (2000MG/KG). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

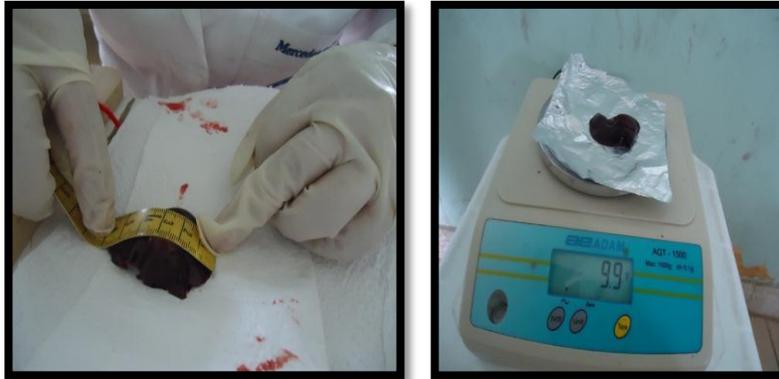


**FOTOGRAFÍA No 26.
BLANCO**

**FOTOGRAFÍA No 27.
GRUPO A
(114,47mg/kg)**

**FOTOGRAFÍA No 28.
DOSIS (2000mg/kg).**

ANEXO No 10. MEDICIONES DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.



FOTOGRAFÍA No 29. MEDICIONES DEL ESTOMAGO, HIGADO Y RIÑONES DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*).BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

ANEXO No 11. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). LABORATORIO HISTOPATOLÓGICO DR. OSWALDO DUQUE ANDRADE. SEPTIEMBRE 2012.

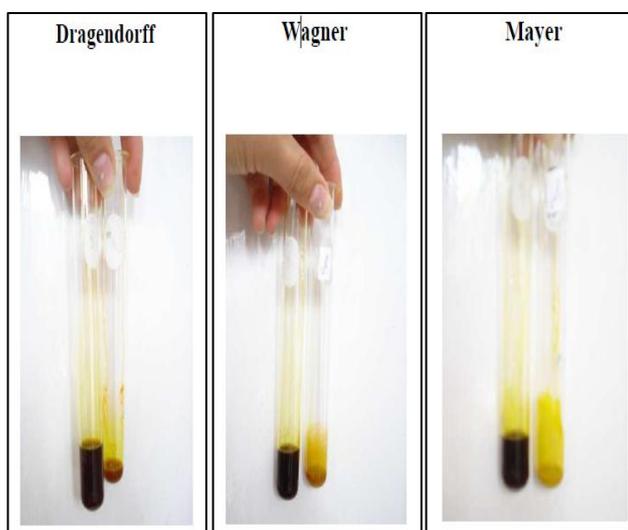




FOTOGRAFÍA No 30. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). LABORATORIO HISTOPATOLÓGICO Dr. OSWALDO DUQUE ANDRADE. SEPTIEMBRE 2012.

Nota: No es toxico el extracto etanólico de Carrasquilla (*Berberis hallii*).

ANEXO N_o 12. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE ALCALOIDES DE *Berberis hallii*, TESIS BQF. SILVA CAROLINA.



ANEXO N^o 12. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE FLAVONOIDES DE *Berberis hallii*, TESIS BQF. SÁNCHEZ MARÍA.

